أسس ومبادئ الميكروبيولوجيا التطبيقية

د / خالدعبدالرحمن البنا

أستاذ التقنية الحيوية الميكروبية

كلية الزراعة – جامعة الفيوم

د/ راوية فتحي جمال

أستاذ الميكروبيولوجى

كلية الزراعة – جامعة عين شمس

د/ راشد عبدالفتاح زغلول

أستاذ ورئيس قسم الميكروبيولوجي

كلية الزراعة – جامعة بنها

د/ حسين حسن أبوالريش

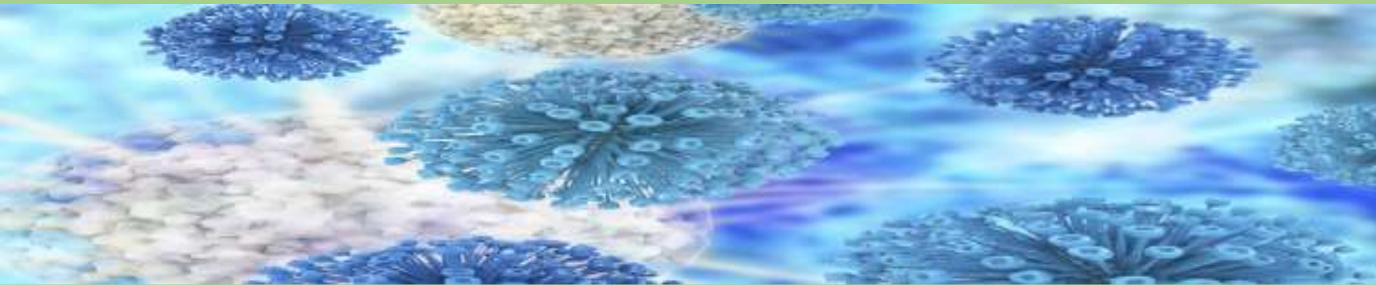
أستاذ علم البيئة الميكروبية المشارك

كلية العلوم التطبيقية– جامعة أم القرى





٢٠١٨ م – ١٤٣٩ هـ



أسس ومبادئ الميكروبيولوجيا التطبيقية

خالد عبدالرحمن البنا – راوية فتحى جمال – راشد عبدالفتاح زغلول – حسين حسن أبو الريش

تم تحكيم الكتاب من قبل عمادة البحث العلمي– جامعة أم القري– المملكة العربية السعودية

مكتبة الملك فهد الوطنية للنشر– مكة المكرمة– المملكة العربية السعودية

رقم الإيداع ١٤٣٩/٩٨٢٣هـ

الرقم الدولي للكتاب ٩٧٨-٦٠٣-٠٢-٧٥٥٠-٢٠

المحتويات

المقدمة

تساهم الميكروبات بدور هام في حياتنا اليومية فهى تقوم بإعادة تدوير جميع المواد العضوية الناتجة عن جميع الأحياء ومخلفاتها ومعدنتها وعودة عناصرها إلى البيئة (التربة أو المياه أو الجو)، والتى بدورها تستخدم فى بناء الأحياء الجديدة ، وهكذا تستمر دورة الحياة منذ الخليقة دون نقص أو زيادة فى هذه العناصر على الأرض وغلافها الجوى ماعدا العناصر التى وصلت الى الأرض عن طريق النيازك والغازات فى الغلاف الجوى والتربة مما يجعل الأرض صالحة لحياة الكائنات.

واذا لم تقم الميكروبات بهذا الدور لتراكمت المواد العضوية سواء كانت حيوانية أو نباتية على مر العصور مما يجعل الحياة مستحيلة على الأرض . وقد حباها الله سبحانه وتعالى بكثير من الصفات التى تميزها عن الكائنات الأخرى والتى تجعلها تعيش وتتحمل الظروف البيئية المختلفة التى يعيش فيها الانسان والأحياء الأخرى بل تعدت هذه الظروف لتعيش وتتكاثر فى أوساط بيئية غاية الصعوبة وذات اجهاد بيئى عال جدا لا تتحمله أو تستطيع أن تعيش فيه الكائنات الراقية ، حتى تستطيع أن تقوم بدورها على أكمل وجه . فبعضها يعيش فى قاع المحيطات على عمق ٥-٦ كم عند ضغط جوى مرتفع (٧٠ بار) وكذلك عند درجات حرارة تصل الى ١١٥ °م بالقرب من الفوالق النارية فى قاع المحيطات وحول البراكين، وتنمو عند درجات حرارة منخفضة تصل الى -١٨ °م فى جليد محيطات القطب الشمالى . كما ينمو بعضها عند تركيزات عالية من الملح ٣٠% مثل الميكروبات التى تعيش فى البحر الميت ، ويطلق على الميكروبات التى تتواجد فى مثل هذه الظروف التى ينعدم بها النسل والحرث بالميكروبات المتطرفة فى احتياجاتها البيئية والتى أمدها الله سبحانه وتعالى بكثير من المميزات التى تجعلها تقوم بدورها فى البيئة على أكمل وجه (ومن أياته خلق السموات والأرض ومابث فيهما من دابة وهو على جمعهم اذا يشاء قدير) الشورى الأية (٢٩).

ويوجد ميكروبات تعيش تحت الظروف اللاهوائية وبعضها يؤقلم نفسه لكى يعيش هوائيا ولا هوائيا ويتحمل ظروف الجفاف العالية جدا لعشرات السنين ، كما أن هناك ميكروبات تعيش داخل الصخور وتتغذى على معادنها وتتحمل درجات عالية من الاشعاع . ومن ذلك نجد أن التنوع الحيوى لهذه الكائنات يختلف باختلاف الظروف البيئية حتى تقوم بدورها الذى جبلت عليه مهما كانت الظروف قاسية عليها .

ويتناول هذا الكتاب دور الميكروبات فى المجال الصناعى والتعدينى ، الطبى ، الزراعى , الغذائى ،السلمى ، الأمراض والإنسان ، كما يتناول الكتاب فى بعض الأبواب لمنتجات التقنية

الحيوية الجديدة مثل الوقود الحيوى والديزل الحيوى والغاز الحيوى والبلاستيك الحيوى والأنسولين البشرى والمبيدات الحيوية وأخيرا صناعة الأسلحة البيولوجية .

ولقد حاولنا فى هذا الكتاب تقديم رؤية شامله عن المعلومات الأساسية للكائنات الحية الدقيقة والتى تفيد المهتمين بدراسة هذه الكائنات سواء فى الجامعات أو المعاهد البحثية المختلفة، ولقد حرصنا علي عرض المعلومات بسهولة ويسر وقد تم ذلك من خلال الاستعانة بمجموعة من المراجع العربية والإنجليزية والكتاب مزود بعدد وافر من الأشكال والرسومات التوضيحية لمساعدة القارئ علي فهم الموضوعات المختلفة المتعلقة بهذا العلم.

ولقد روعي أن يلم القارئ بما هو حديث في هذا العلم لكي نحقق ما يتطلع إليه وطننا العربى من تقدم ورقي ، وأننا ندين بالفضل كل الفضل لله سبحانه وتعالى أولاً على أن وفقنا فى إتمام هذا العمل المتواضع ثم للذين تعلمنا منهم وزودونا بخبراتهم ، وندعو الله أن نكون قد وفقنا في إعداد هذا الكتاب لكي يكون إضافة إلي المكتبة العربية لنشر العلم بين المهتمين بدراسة علوم الميكروبيولوجيا ، ونسأل الله أن يفيد بهذا الجهد المتواضع كل من يعمل في مجال الميكروبيولوجيا التطبيقية فى الوطن العربى.

والله الموفق لما نحب ونرضي......

المؤلفون

(الباب الأول-الفصل الأول)

لمحة تاريخية عن الكائنات الحية الدقيقة

تساهم الميكروبات (الكائنات الحية الدقيقة) بدورٍ هام فى حياتنا اليومية من حيث أهميتها فى زيادة خصوبة التربة **Soil fertility** وزيادة إنتاجية المحاصيل المنزرعة ومقدرة العديد منها على إنتاج الكثير من المواد ذات الأهمية الحيوية مثل المضادات الحيوية ،الإنزيمات ،الأحماض الأمينية ،الكحولات، الفيتامينات ،الهرمونات النباتية والبروتين وحيد الخلية، كما تساهم الكائنات الحية الدقيقة أيضاً فى تصنيع الكثير من الأغذية مثل الألبان المتخمرة وتصنيع الجبن والمخبوزات، لذلك يطلق على الكائنات الحية الدقيقة أنها محركة الحياة **Life moving** ولولاها ما وجدت حياة على سطح الأرض، ويسمى العلم الذى يهتم بدراسة هذه الكائنات علم الميكروبيولوجى (علم الكائنات الحية الدقيقة).

ويهتم علم الميكروبيولوجى بدراسة الكائنات الحية الدقيقة لفهم طبيعتها ومعرفة أنواعها والأدوار التي تقوم بها سواء لصالح الإنسان أو الإضرار به بهدف التحكم فى نشاطها للحصول على أقصى فائدة منها أو لتقليل أو منع الأضرار التى تسببها الأنواع الضارة منها.

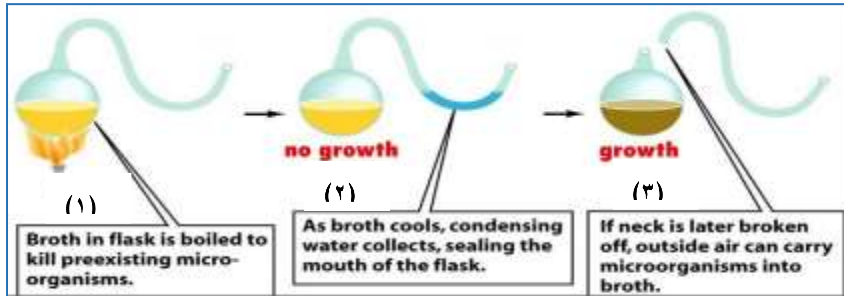
وأول من اكتشف هذه الكائنات ووصفها ورسمها هو الهولندى أنطوني فان ليفنهوك (١٦٣٢ – ١٧٢٣م) وهو من هواة صناعة العدسات التى مكنته من رؤية هذه الكائنات ووصفها، ولقد أرسل رسوماته وملاحظاته إلى الجمعية الملكية البريطانية التي دعته لمناقشته فيها، ولقد تلي اكتشاف الكائنات الحية الدقيقة التفكير فى أصل أو مصدر هذه الكائنات. وانقسم المهتمين بهذا العلم فى بداية الأمر إلى قسمين هما:

المدرسة الأولى وهى تعتقد أن هذه الكائنات الحية الدقيقة تتكون ذاتياً أى بدون أصل حى، ولقد أطلق على نظريتهم اسم نظرية "التوالد الذاتى"**Spontaneous generation**.

أما المدرسة الثانية فإن أصحابها كانوا يعتقدون أن هذه الكائنات لابد لها من أصل حى حتى يمكنها النمو والتكاثر **Growth and reproduction**، وهذا الأصل قد يكون جراثيم أو بذور توجد فى الهواء حيث سميت هذه النظرية بنظرية الجراثيم **Germ theory**، وبعد أن تقدم العلم وثبت استحالة تواجد الكائنات الحية بدون أصل حى مما أضعف نظرية التوالد الذاتى فقد بدأ العلماء فى وضع أدلة ضد هذه النظرية، وأول من وضع شواهد وأدلة أكيدة ضد نظرية التوالد الذاتى لهذه الكائنات هو الإيطالي لازارو سبلانزاني والذى أظهرت تجاربه أن غليان السوائل العضوية في دوارق وإحكام غلقها يمنع نمو الكائنات الحية الدقيقة وبالتالى لا يحدث فساد**Spoilage** لهذه السوائل.

ويعتبر العالم لويس باستير (١٨٢٢ – ١٨٩٥م) هو رائد الدراسات التى أجريت لمعرفة التغيرات الكيماوية التى تحدثها هذه الكائنات فى السوائل العضوية ، ولقد أجرى هذا العالم دراسات كثيرة وقيمة، وكان من أول الأمور التى اهتم بها هو محاولة هدم نظرية التوالد الذاتى للكائنات الحية الدقيقة، حيث أثبت وجود الكائنات الحية الدقيقة فى الهواء وأن إمرار الهواء الخالى من الكائنات الحية الدقيقة (بعد تسخينه لقتل الكائنات الحية الدقيقة) فى السوائل العضوية المغلية لم يؤدى إلى نمو البكتريا فى هذه السوائل مما يؤكد أنه لابد من وصول الكائنات الحية الدقيقة من مصدر خارجى، كما أثبت باستير أن السوائل يمكن أن تبقى معرضة للهواء بدون أن تنمو فيها الكائنات الحية الدقيقة طالما أمكن منع وصول الكائنات الحية الدقيقة إلى السائل ولقد أثبت ذلك باستخدام دورق ذو عنق منحنى كما يوضح شكل [١ (١)-١] حيث يسمح بتبادل الهواء داخل الدورق دون دخول الميكروبات.

ولقد وضعت دراسات باستير حداً قاطعاً على عدم صحة نظرية التوالد الذاتى وأثبتت أن الكائنات الحية الدقيقة لابد لها من أصل حى ، وبالرغم من الأهمية الكبيرة لدراسات باستير التى هدمت نظرية التوالد الذاتى، إلا أن هذه الدراسات تعتبر جزءاً ضئيلاً مما قدمه هذا العالم الكبير لعلم الميكروبيولوجى حيث تمكن من عزل الخميرة ، كما تمكن من منع فساد الخمور الذى كان يؤدى إلى خسائر كبيرة فى فرنسا فى ذلك الوقت وذلك بتسخينها إلى درجة حرارة تقترب من الغليان وتعرف باسم البسترة Pasteurization نسبةً إلى اسمه ، كل هذه البحوث وغيرها أرست قواعد علم الميكروبيولوجى مما أدى إلى أن كثيراً من العلماء يعتبرون باستير هو المؤسس الحقيقى لعلم الميكروبيولوجى.



شكل١ (١) -١: إثبات عدم صحة نظرية التوالد الذاتي

١-تسخين البيئة فى دورق ذو عنق منحني مع إمرار الهواء.

٢- ترك البيئة لتبرد وتترك معرضة للهواء ولاحظ عدم وجود نمو للميكروبات

٣-كسر رقبة الدورق وترك البيئة معرضة للهواء فيلاحظ نمو الميكروبات.

ومن العلماء الذين ساهموا أيضاً في تقدم علم الميكروبيولوجى العالم روبرت كوخ (١٨٤٣-١٩١٠م) الذي وضع أسس التحضيرات البكتريولوجية وصبغها لتسهيل دراستها، كما اكتشف ميكروب السل وميكروب الكوليرا.

يعد هؤلاء هم العلماء الأوائل الذين فتحوا الطريق للتعرف على الكائنات الحية الدقيقة وتطور هذا العلم بسرعة حيث أصبح يضم فروعاً وتخصصات عديدة، كما اكتشف أن الكائنات الحية الدقيقة مجموعة كبيرة جداً من الأحياء تتضمن البكتيريا Bacteria والفطريات Fungi و البكتيريا الزرقاء Cyanobacteria والأكتينوبكتيريا Actinobacteria والفيروسات Viruses والفيرويد Viroid (عبارة عن جزيئات دقيقة غير خلوية تتكون من حمض نووى فقط) والبريونات Prions (عبارة عن جزيئات من البروتين قادرة على احداث العدوى).

أهمية الكائنات الحية الدقيقة

Importance of microorganisms

تقوم الكائنات الحية الدقيقة بدورٍ هام **Important role** فى تحلل المواد العضوية **Organic matter** فى التربة ولو تخيلنا عدم وجود الكائنات الحية الدقيقة فإن المواد العضوية التى تتراكم بعد حصاد المحاصيل وبقايا الحيوانات والإنسان سوف تتراكم باستمرار ثم تغطى الأرض وتصبح الزراعة مستحيلة.

كما أن تحلل هذه المواد العضوية يؤدى إلى تحول الكثير من العناصر الموجودة فى هذه المواد إلى صورةٍ صالحة لتغذية النباتات حيث يزيد ذلك من خصوبة التربة. كما تقوم بعض أنواع البكتيريا بتثبيت النيتروجين الجوى فى الأرض الزراعية ومن هذه البكتيريا ***Azotobacter*** وبكتيريا **spp** ***Azospirillum*** والتى تثبت نيتروجين الهواء الجوى وهى حرة فى التربة وبكتيريا **spp** ***Rhizobium*** التى تثبت نيتروجين الهواء الجوى فى العقد الجذرية للنباتات البقولية مما يقلل الحاجة إلى التسميد النيتروجينى حيث ينعكس هذا فى الحفاظ على البيئة من التلوث.

تساهم الكائنات الحية الدقيقة فى تحلل المبيدات **Pesticides degradation** فى التربة الزراعية. وتقوم الكائنات الحية الدقيقة بدورٍ هام فى تيسير الكثير من العناصر الغذائية اللازمة لتغذية النبات مثل الفوسفور والكبريت ومعظم العناصر الصغرى مثل الحديد والزنك والنحاس والبورون.

وتستخدم الكائنات الحية الدقيقة فى إحداث تغيرات مرغوبة فى الأغذية وأمثلة ذلك عديدة ومنها إنتاج الخبز عن طريق تخمير العجين بواسطة الخميرة وإنتاج الزبادى من اللبن بواسطة بكتيريا حمض اللاكتيك وأيضاً إنتاج المخللات بواسطة بكتيريا حمض اللاكتيك. كما تنتج الكائنات الحية الدقيقة الكثير من المواد الكيماوية ذات الأهمية الصناعية والطبية والزراعية من خلال التخمرات الميكروبية **Microbial fermentation** مثل إنتاج كحول الإيثانول والخل والأسيتون والبيوتانول والأحماض العضوية مثل البيوتيريك واللاكتيك والستريك والكوجيك وإنتاج الفيتامينات والدكستران (بديل لبلازما الدم) والبوليمرات.

ومع ظهور أزمة الغذاء علي مستوي العالم نجد أن هذه الكائنات الحية الدقيقة مثل الفطريات والخمائر والطحالب والبكتيريا يمكن أن تساهم فى حل مشكلة الغذاء وذلك بإنتاج البروتين وحيد الخلية **Single cell protein** والأعلاف وبالتالى تساهم فى حل مشكلة نقص الغذاء، وأهمية هذه الكائنات تأتى من أنها سريعة النمو حيث يمكن أن تتضاعف خلال ساعة أو أقل بينما النباتات والحيوانات تحتاج إلى شهور لمضاعفة وزنها.

وتشارك الكائنات الحية الدقيقة فى معالجة مياه الصرف الصحىSewage treatment لإنتاج السماد العضوى والطاقة، كما تستخدم الكائنات الحية الدقيقة فى إحداث تغيرات مرغوبة Desirable فى الألبان ومنتجاتها.

وتستخدم الكائنات الحية الدقيقة فى إنتاج العديد من المواد الحيوية ذات الأهمية الاقتصادية مثل الهرمونات والفاكسينات والإنزيمات والأحماض الأمينية وإنتاج المضادات الحيوية Antibiotics ذات القيمة الكبيرة فى علاج الكثير من الأمراض البكتيرية مثل الحمى المعوية والكوليرا والدوسنتاريا الباسيلية.

(الباب الأول -الفصل الثانى)

أنواع الكائنات الحية الدقيقة

أولاً: البكـتيـريا Bacteria

الشكل المورفولوجي للبكتيريا Morphology of bacteria

يتضمن دراسة الشكل المورفولوجى للخلية البكتيرية معرفة أشكالها وحجمها وطريقة تجمعها وحركتها، وعموماً فإن الخلية البكتيرية لا تختلف كثيراً من ناحية التركيب الخلوى Cellular structure عن خلايا الكائنات الأخرى وحيدة الخلية، ولكن نظراً لصغر حجمها المتناهى فإن دراستها تتم بالفحص الميكروسكوبى بعد صبغها بالصبغات البسيطة أو المركبة.

أشكال الخلايا البكتيرية Shapes of bacterial cells

تتواجد البكتيريا على عدة أشكال كما هو واضح فى شكل[١ (٢) -١].

١- الشكل الكروى Cocci shape والمفرد Coccus

البكتيريا الكروية قد تكون مستديرة تماماً كما فى جنس *Micrococcus* كما تتميز عن بعضها أيضاً حسب نظام تجمعها نتيجة لطريقة انقسامها ويتضح ذلك من الأشكال المختلفة للتجمعات كما يلي:

١-خلايا مفردة أو فى تجمعات غير منتظمة مثل *Micrococcus*.

٢-وقد توجد البكتيريا الكروية فى أزواج مثل *Diplococcus*.

٣-وقد توجد البكتريا الكروية في سلاسل مثل *Streptococcus*.

٤-وقد تتجمع البكتيريا في أشكال تشبه عنقود العنب مثل *Staphylococcus*.

٢- الشكل العصوى Bacilli shape والمفرد *Bacillus*

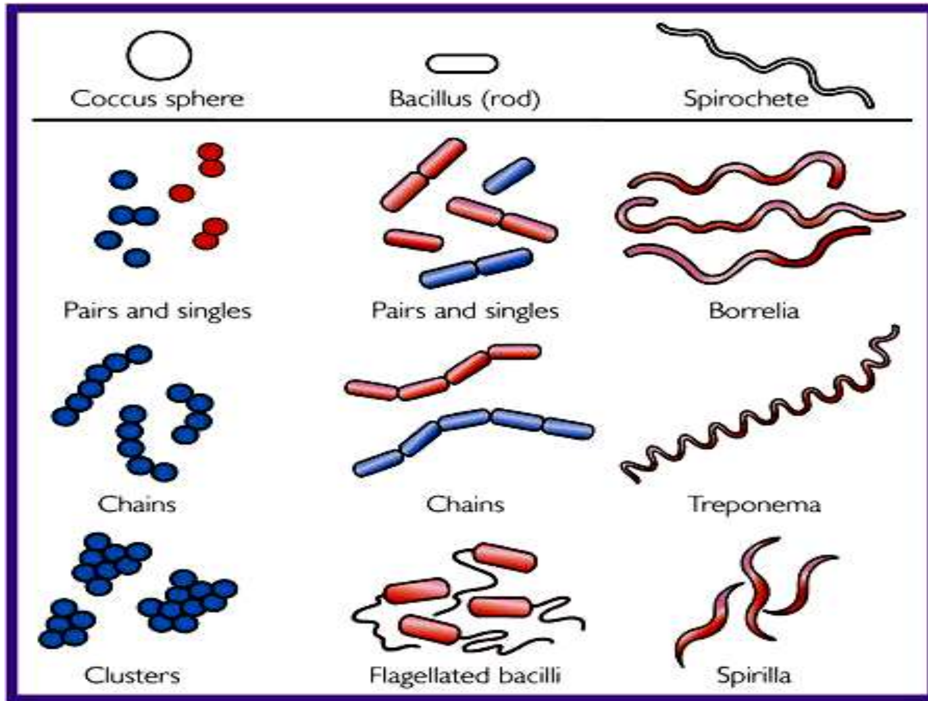
يتميز الشكل العصوي بأن الخلية لها طول وعرض لذلك فهى تقسم إلى عصوى قصير طولها يقترب من عرضها مثل جنس *Salmonella* أو عصوى طويل ويبلغ الطول من٣ إلى١٠ أمثال العرض مثل جنس *Bacillus*.

٣- الشكل الحلزونى Spiral shape

وتنقسم البكتيريا الحلزونية إلى:

١-عصويات واوية الشكل مثل جنس *Vibrio* المسبب لمرض الكوليرا.

٢-عصويات بريمية الشكل مثل الأنواع التابعة لجنس *Azospirillum* المثبت لأزوت الهواء الجوى.



شكل١ (٢) -١: أشكال البكتيريا ونظم تجمعها

٤- البكتيريا الشبيهة بالفطر (البكتيريا الخيطية)

تضم هذه البكتيريا مجموعة الأكتينوبكتيريا وتكون هذه البكتيريا خيوطاً متفرعة تشبه هيفات الفطر ولكن سمكها يماثل سمك الخلية البكتيرية ومن أمثلة هذه البكتيريا ***Streptomyces***.

٥- البكتيريا المغلفة **Sheathed bacteria**

تكون هذه البكتيريا غلافاً يحيط بسلسلة الخلايا معطياً لها المظهر الخيطي حيث يساعد هذا الغلاف على التصاق البكتيريا بالأسطح الصلبة ومن أمثلة هذه البكتيريا بكتيريا الحديد مثل أجناس ***Leptothrix, Sphaerotilus***.

٦- البكتيريا ذات الزوائد **Bacteria with appendages**

هذه البكتيريا تكون زوائد عبارة عن امتدادات خيطية تمتد من جدار الخلية أو غشائها السيتوبلازمى تساعد البكتيريا على الالتصاق بالأسطح الصلبة أو امتصاص المواد الغذائية وقد تكون زائدة واحدة أو أكثر ومن أمثلتها جنس ***Hyphomicrobium***.

أقسام المجاميع الهامة من البكتريا

نظرا لان البكتيريا ليس لها تراكيب تشريحية محددة أو علاقات تطورية واضحة مثل التي يشاهدها علماء النبات والحيوان ويستخدمونها في دراسات التقسيم، ولهذا فإن نظم تقسيم البكتريا فى الماضى كان يتم على أساس عدد من الصفات تتضمن (الصفات المزرعية – الفسيولوجية – السيرولوجية) وفى هذا الصدد أجريت محاولات في علم تصنيف الكائنات الدقيقة وذلك بغرض ترتيب الميكروبات في مجموعات وتحت مجموعات بينها علاقات تشابه مع بعضها وترتيبها بالنسبة لأنواع الأحياء الأخرى ، وفي هذا المجال فإنه من المناسب أن نشير الى المراجع المستخدمة في تصنيف البكتريا.

ففى بدايةً القرن الماضي كان يستخدم المرجع المشهور الذى كان يطلق عليه "برجي Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" وهذا المرجع اعتمد فى التصنيف على دراسة الصفات المورفولوجية والفسيولوجية، وهو مرجع انسكلوبيدي (موسوعة) يوضح نظام تقسيم البكتريا الذي يتبعه أغلب علماء البكتيريولوجي ، وهذا المرجع يعتبر بمثابة مرشد عملي لتعريف البكتريا ويصدر باستمرار منذ ١٩٢٣ م ، وأخر طبعة من هذا المرجع هي الطبعة التاسعة والتى صدرت عام ١٩٩٤م والتي تصنف بدائيات النواة الى (٣٥) مجموعة منها (٣٠) مجموعة تضم الإيوبكتيريا (Eubacteria) وهي البكتريا الحقيقية ، والخمسة (٥) الباقية تضم الأركيوبكتيريا (Archaeobacteria).

ونظراً لتزايد أعداد الكائنات الدقيقة المكتشفة والتي تصل إلى مئات الآلاف من الأنواع والتي يصعب معها إجراء اختبارات مورفولوجية وفسيولوجية تؤدي إلى تميز واضح للأنواع الجديدة لذا اتجه العلماء فى العصر الحديث إلى الاعتماد فى تصنيف البكتيريا على تقنيات حديثة لدراسة الصفات الوراثية للكائنات الدقيقة كدراسة 16s rDNAالى جانب دراسة الخصائص المورفولوجية والفسيولوجية. وبناءً عليه تم إعادة حصر وترتيب الكائنات الدقيقة في مجموعات على أساس الاختلاف الوراثي وتم تعديل اسم المرجع إلى Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ، والذى صدرت منه حتى الأن خمس مجلدات وقد شارك في إعداد طبعات هذا المرجع الجديد العديد من العلماء من كل أنحاء العالم ، وساهم كل منهم بما لديه من معلومات وخبرات عن المجموعة البكتيرية المتخصص بها ويعتبر هذا المرجع عملاً شبه متكامل عن تصنيف البكتريا ويلقى ميولاً واسعاً من كل العاملين بمجال البكتيريولوجي ، ولقد قسمت البكتيريا بمرجع برجي الحديث إلى قسمين رئيسين هما Archaea و Eubacteria .

• الأركيوبكتيريا (الأركيا) **Archaea**

وهى باللاتينية تعنى البكتيريا البدائية التى تعيش في الأوساط الغير عادية كالملوحة الشديدة والحرارة المرتفعة (وسميت بذلك اعتقادا بأنها أصل البكتيريا التى نشأت مع بداية نشأة الأرض عندما كانت درجة حرارة الحياة مرتفعة) وتتميز أفراد هذا القسم بأن لها جدار خلوي ذو تركيب خاص يفتقد لوجود مادة الببتيدوجليكان في الجدار الخلوى وهى تختلف تماما في ذلك عن قسم البكتيريا الحقيقية **Eubacteria**.

والأركيوبكتيريا تضم ثلاث مجموعات رئيسيه هي:

- **Koraechaeota**

وهى مجموعة من البكتيريا التى تتواجد فقط فى الظروف والأوساط ذات درجة الحرارة العالية جدا سواء في الأوساط المالحة أو المياه العادية.

- **Crenarchaeota**

هى بدائيات النواة التى تشمل كل من الكائنات التى تعيش في ظروف غير عادية كالحرارة المرتفعة جدا **Hyperthrmophilic** وكذلك الحرارة الباردة **Cold-dwilling prokaryotes**.

-**Euryarchaeota**

تضم مجموعة من البكتيريا المحبة جدا للملوحة والتي قد تصل إلى ٢٥-٣٠% **NaCl**.

• البكتيريا الحقيقية **Eubacteria**

وباختصار سوف نعرض فقط أهم المجاميع البكتيرية التابعة للبكتيريا الحقيقية **Eubacteria** وأهم خصائصها وفقا لمرجع برجى الحديث

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology

1-*Aquifex* group

وهى بكتيريا سالبة لجرام ، ذاتية التغذية الكيميائية (تحصل على الطاقة من أكسدة المواد الكيمائية)، محبة للحرارة العالية جدا (الدرجة المثلى ٨٥ °م، الدرجة العظمى ٩٥ ° م)، محبة للهواء بدرجة قليلة، ومن أهم الأنواع ***Aquifex pyrophilus*** ، تلعب دور هام فى مجال التكنولوجيا الحيوية في إنتاج الإنزيمات المحبة للحرارة.

2- *Thermotoga* group

بكتيريا سالبة لجرام، تشبه المجموعة السابقة فى أنها ذاتية التغذية الكيميائية ، محبة للحرارة العالية ولكن تنمو فى مدى حرارة واسع مابين٥٥-٩٠ °م ، محبة للهواء بدرجة قليلة، ومن أهم الأنواع *Thermotoga maritima* .

3- *Chloroflexus* group

بكتيريا سالبة لجرام، محبة للحرارة، لا هوائية، ذاتية التغذية الضوئية حيث تحتوى على كلوروفيل بكتيرى ومن أهم الأنواع *Chloroflexus* sp.

4- *Deinococcus* group

بكتيريا موجبة لجرام وجدارها الخلوي يحتوى على مادة الأورنثين Ornithin بدلا من الحامض الأمينى Diamino pimelic acid وأهم مايميزها أنها مقاومة للإشعاع وللجفاف لذا يطلق عليها Radiation resistant bacteria ، ومن أهم الأمثلة *Deinococcus radiodurans*.

5- *Thermus* group

بكتيريا هوائية، عصوية سالبة لجرام، محبة للحرارة، رمية التغذية ، وتلعب دور هام فى مجال التكنولوجيا الحيوية فى إنتاج إنزيمات البوليمريز التى تعرف بــ *Taq* polymerase والتى تستخدم الآن فى تطبيقات الـــ PCR والذى يتم إنتاجه من *Thermus aquaticus* .

6-Spirochaetes group

بكتيريا سالبة لجرام، خلاياها هلالية طويلة، تتحرك حركة بريميه بالاسواط، بعضها هوائي والبعض لاهوائى، رمية التغذية الكيميائية، من أهم الأمثلة *Borrelia burgdorferi*.

7-Proteobacteria group

بكتيريا سالبة لجرام، والجدار الخلوي يحتوى على نسبة عالية من الليبدات والليبيدات البروتينية المعروفة Lipopolyproteins والليبيدات السكرية المعروفة بـ Lipopolysaccharids مع نسبة قليلة جدا من مركب الببتيدوجليكان، متباينة التغذية فالبعض منها يقوم بعملية التمثيل الضوئي للحصول على الطاقة Photoautotrophs ، والبعض يحصل على الطاقة من أكسدة بعض المواد الكيميائية أو العضوية Chemolithotrophs or (Chemoheterotrophs) ، بعضها عصوي أو كروي أو خيطي ، وتقسم إلى تحت ٥ مجموعات كما يلى :

Alpha, Beta, Gamma, Delta, Epsilon and Zeta Protobacteria.

ومن أهم الأجناس التابعة لها:

Rhizobium, Nitrosomonas, Pseudomonas, Escherichia, Campylobacter.

8-Blue green bacteria (Cyanobacteria) group

وهى بكتيريا هوائية ذات خلايا كبيرة الحجم ومتباينة فى الشكل المورفولوجي، وتتحرك حركة زاحفة Gliding motility وذات تركيب خاص يحتوى على الكلوروفيل مشابه لكلوروفيل النبات، تنتج أكسجين فى عملية التمثيل الضوئى، ومن اهم الأمثلة لها: *Oscillatoria, Nostoc, Anabaena.*

9-Gram-positive low GC group (20-50%)

وهى بكتيريا كروية أو تميل إلى الشكل العصوي، موجبة لجرام ، والجدار الخلوي يحتوى على حمض Teichoic acid ونسبة عالية من مركب الببتيدوجليكان، وهى متباينة جدا من النواحي الفسيولوجية، فالبعض لاهوائى اختياري Facultative anaerobes مثل جنس *Staphylococcus*، والبعض هوائي متجرثم مثل جنس *Bacillus*، والبعض لاهوائى متجرثم مثل جنس *Clostridium*.

10-Gram-positive high GC group (50-75%)

وهى بكتيريا موجبة لجرام ،والجدار الخلوى يحتوى على حمض Teichoic acid acid ونسبة عالية من مركب الببتيدوجليكان، وهى متباينة الشكل المورفولوجي ، فمنها الشكل الكروى أو العصوى أو الخيطى والبعض خيطي متفرع.

من أهم الأنواع:

Streptomyces, Micrococcus, Actinomyces, Mycobacterium

11-*Bacteriods* and *Flavobacterium* group

وهى بكتيريا سالبة لجرام، عصوية وفى بعض الأحيان ذو انحناءه أو خيطية، متحركة بحركة إنزلاقية ، والبعض منها لاهوائى حتمى والبعض الأخر هوائى حتمى، ومن أهم الأنواع التى تتبع هذه المجموعة *Cytophaga, Flavobacterium, Bacteriods*.

12-*Chlorobium* group

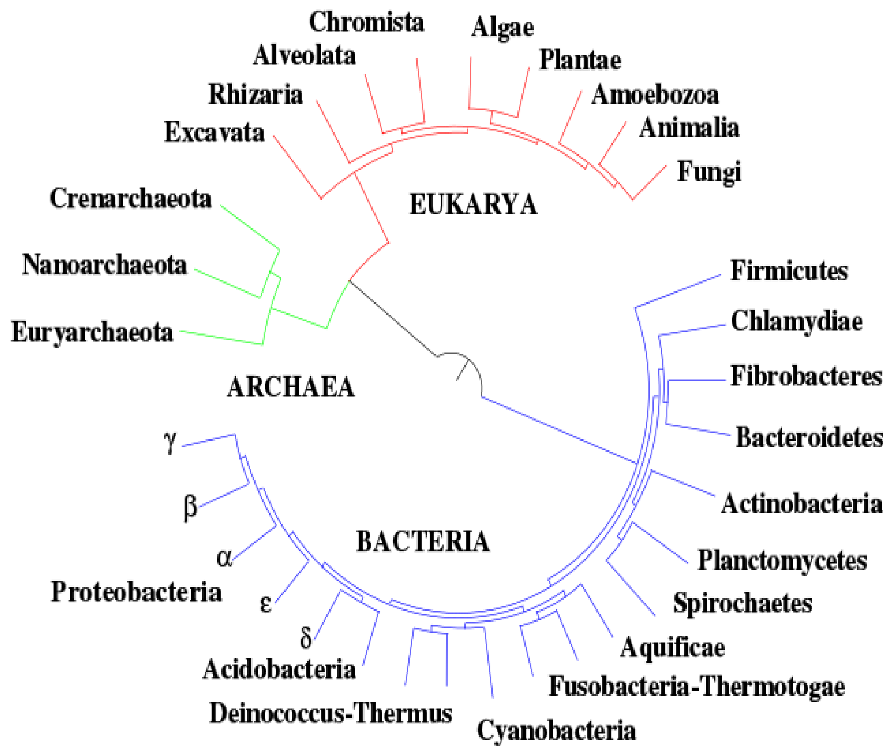
بكتيريا سالبة لجرام ومتباينة الشكل المورفولوجي، ومن أهم مميزاتها احتواء خلاياها على الكلوروفيل البكتيري. وهى بكتيريا ذاتية التغذية الضوئية وتعتمد على استخدام H_2S and H_2 كمانحات للهيدروجين ، ومن أهم الأنواع التابعة لها *Chlorobium limcola*.

13- *Planctomyces* group

بكتيريا سالبة لجرام، لاهوائية إختيارية، كيموهتيروتروفية، متبرعمة، والجدار الخلوى عبارة عن طبقات بروتينية خالية من الببتيدوجليكان، ومن أمثلتها *Planctomyces maris*.

14- *Chlamydia* group

تتميز هذه المجموعة البكتيرية بأن خلاياها سالبة لجرام صغيرة جدا، وأن خلايا النوع الواحد متعددة الأشكال Pleomorphic والجدار الخلوى عبارة عن أغشية خالية من الببتيدوجليكان، وتتميز بأنها تعيش متطفلة Intercellular parasites على الحيوانات والطيور، ومن أمثلتها *Chlamydia trachomatis*.



شكل ١ (٢) -٢: شجرة النسب الوراثى لكل من البكتيريا الحقيقية Eubacteria والأركيوبكتيريا Archaea والاقسام الرئيسية التابعة لهما.

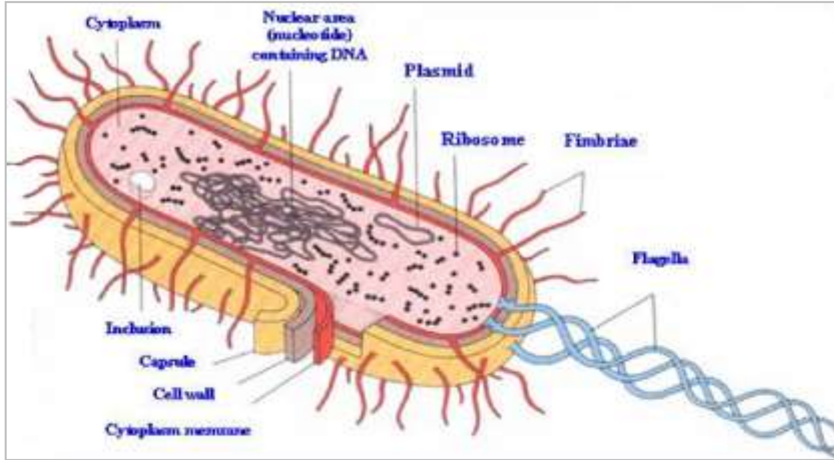
تركيب الخلية البكتيرية Structure of bacterial cell

تعتبر الخلية البكتيرية صغيرة الحجم جدًا ولا ترى إلا باستخدام الميكروسكوب الضوئي، ولقد أظهرت الدراسات أن خلية البكتيريا مثل الخلايا الحية الأخرى لها تركيب منتظم وتحتوى على المكونات الرئيسية Main components اللازمة لقيام الخلية بوظائفها، ويتضح من شكل [١ (٢) -٣] أن الخلية البكتيرية تتكون من المكونات الرئيسية التالية من الخارج إلى الداخل :

١) الطبقة الخارجية The outer layer

تحيط بالخلية من الخارج طبقة لزجة هلامية يختلف سمكها باختلاف نوع البكتيريا وظروف الوسط الذى تعيش فيه، وإذا كانت هذه الطبقة سميكة ومميزة يطلق عليها اسم العلبة، وليست كل أنواع الكائنات الحية الدقيقة قادرة على تكوين العلبة Capsule كما أنها لا تتكون تحت كل الظروف البيئية، والعلبة تتركب من مواد كربوهيدراتية فى أغلب أنواع البكتيريا ولكنها تتكون من بروتينات أو سكريات أمينيه فى أنواع أخرى وأهمية العلبة تتلخص فيما يلى:

- تحمى الخلية من الظروف السيئة.
- تساعد فى التصاق الخلايا ببعضها.
- للعلبة أهمية خاصة فى البكتيريا المرضية حيث لوحظ أن الميكروب المرضى المكون للعلبة إذا فقد قدرته على تكوينها تحت أى ظرف فإنه يفقد قدرته على إحداث المرض.
- تستخدم فى التفرقة بين أنواع البكتيريا.
- تؤثر على مظهر المزارع البكتيرية فمنها ما هو ناعم Smooth والبعض الأخر خشن Rough.



شكل١ (٢) -٣: تركيب الخلية البكتيرية

٢) جدار الخلية Cell wall

للبكتيريا الحقيقية جدار خلوى صلب وهذا الجدار هو الذى يعطى للخلية شكلها ويحميها من المؤثرات الخارجية كما يحمى الخلية من الانفجار عند نموها فى المحاليل منخفضة الأسموزية Hypotonicالتى تعيش فيها ، وترجع صلابة الجدار وقوته إلى أنه يحتوى على مواد كربوهيدراتية معقدة من نوع خاص لا يوجد إلا فى خلايا البكتيريا يسمى الميورينMurine كما يحتوى الجدار الخلوى فى تركيبه أيضاً على أحماض أمينيه.

أهمية الجدار الخلوى Importance of cell wall

أ- الجدار الخلوى ضرورى لحياة البكتيريا لأن الخلايا البكتيرية التى يزال منها الجدار الخلوى تصبح غير قادرة على النمو والانقسام.

ب- يحفظ الجدار الخلوي الخلية البكتيرية من الضغوط الأسموزية العالية Hypertonic أو المنخفضة.

ج- يحفظ الجدار الخلوى للخلية البكتيرية شكلها العصوى أو الكروى أو الحلزونى.

د- يحمى الخلية البكتيرية من الظروف السيئة ومن الكيماويات الضارة.

هـ- يتحكم الجدار الخلوى إلى حد ما فى نوع الجزيئات التى تمر من خلال ثقوبه إلى داخل الخلية لأن الجدار الخلوى لايتميز بخاصية النفاذية الاختيارية Selective permeability التى يتميز بها الغشاء السيتوبلازمى.

و- يعتبر الجدار الخلوى هو المسئول مع الغشاء السيتوبلازمى عن إيجابية وسالبية البكتيريا للصبغ بصبغة جرام Gram stain وكذلك الصمود للصبغ الحمضىAcid fast stain.

ز- يعتبر الجدار الخلوى هو المسئول عن تخليق التوكسينات الداخلية التى تنتجها بعض أنواع البكتيريا مثل التوكسين الذى تنتجه بكتيريا السالمونيللا، كذلك يمكن التمييز بين بعض السلالات والأنواع البكتيرية الممرضة من خلال الخواص الأنتيجينية للجدار الخلوى فى مثل هذه السلالات أو الأنواع.

٣) الغشاء السيتوبلازمى Cytoplasmic membrane

الغشاء السيتوبلازمى يلى الجدار الخلوى من الداخل ويحيط بالسيتوبلازم والمحتويات الداخلية وسمكه رقيق جدًا ويتركب من البروتينات والليبيدات وهو غشاء مرن شبه منفذ وهو المسؤول عن النفاذية الاختيارية للمواد الغذائية كما أن هذا الغشاء يظهر بالفحص الإلكتروني أنه ملئ بانثناءات تسمى Mesosomes ولها دور فى عملية التنفس حيث أنه بديل للميتوكوندريا الموجودة فى خلايا الكائنات الراقية.

أهمية الغشاء السيتوبلازمى Importance of cytoplasmic membrane أ-يعتبر الغشاء السيتوبلازمى هو المسئول عن كل عمليات الانتشار الغشائى من وإلى الخلية البكتيرية.

ب- يحتوي الغشاء السيتوبلازمى على الكثير من الإنزيمات التى تخلقها البكتيريا مثل إنزيمات الأكسدة والاختزال وإنزيمات الفسفرة.

ج- يحتوي الغشاء السيتوبلازمى على منابت الأسواط (وسيلة الحركة في البكتيريا المتحركة).

د- يوجد بالغشاء السيتوبلازمى مراكز تضاعف الحمض النووى DNA.

هـ- يتم بالغشاء السيتوبلازمى الكثير من عمليات التشييد الحيوي Biosynthetic processes مثل العمليات الخاصة بانقسام الخلية وتكوين الكبسولة(العلبة البكتيرية) وتلك الخاصة بتشييد الجدار الخلوى.

و- يوجد بالغشاء السيتوبلازمى صبغات التمثيل الضوئى فى البكتريا الممثلة للضوء، كذلك يوجد به إنزيمات الفسفرة Phosphorylation ونقل الإلكتروناتElectron transport.

ز- يوجد بالغشاء السيتوبلازمى الناقلات البروتينية Permeases المسئولة عن انتقال المواد عبر الغشاء السيتوبلازمى.

ح- ينظم الغشاء السيتوبلازمى حركة الماء والكربوهيدرات والبروتينات والأيونات وغير ذلك من المواد الأخرى.

ط- يتم بالغشاء السيتوبلازمى توليد القوة الدافعة للبروتونات اللازمة لتوليد جزيئات الطاقة ATP والتى تستخدمها الخلية البكتيرية فى إتمام كل التفاعلات الحيوية.

٤) السيتوبلازم Cytoplasm

سيتوبلازم البكتيريا يشبه فى صفاته العامة الطبيعية والكيماوية سيتوبلازم الكائنات الحية الأخرى فهو بروتينى غروى يحتوى على٧٠-٩٠ ٪ من وزنه ماء ويحتوى السيتوبلازم على المادة النووية والحبيبات المخزنة Storage granules والمحتويات الداخلية كما يحتوى السيتوبلازم بداخله على كثير من الإنزيمات الهامة ومراكز بناء البروتين وبعض المواد المخزنة.

٥) المادة النووية Nucleolus material

لم يكن من الممكن مشاهدة المادة النووية فى التحضيرات البكتيرية سابقاً مما جعل بعض العلماء القدامى يعتقدون بأن الخلية البكتيرية ليس لها نواة، ولكن بتقدم طرق الفحص ظهر أن الخلية البكتيرية تحتوى على نواة بدائية مكونة من كروموسوم واحد يتركب من الحمض النووى DNA وتقوم بنفس وظائف نواة الكائنات الأرقى ولكن نواة البكتيريا تختلف عن نواة الخلايا الأخرى بأنها ليس لها غشاء نووى يحيط بها و لا توجد نوية.

٦) المواد المخزنة Storage materials

يحتوى سيتوبلازم الخلايا البكتيرية وخصوصا الخلايا المسنة على مواد غذائية مخزنة قد تظهر فى صورة حبيبات نشا، أو جليكوجين، أو حبيبات شبيهة بالدهون مثل مادة بولى هيدروكسى بيوتيرات poly hydroxyl butyrate (PHB) ، أو مواد فوسفورية مخزنة فى صورة بولى فوسفات.

٧) الجراثيم الداخلية Endospore

بعض البكتيريا تكون جراثيم داخلية مثل الأنواع التى تنتمى إلى أجناس *Bacillus & Sporosarcina, Clostridium* والتجرثم أحد طرق حفظ النوع وليست طريقة من طرق التكاثر مثل ما يحدث فى الخمائر والفطريات. والجرثومة البكتيرية لها القدرة على مقاومة الحرارة والجفاف Dryness والكيماويات والإشعاع Radiation ، وهى تتكون من جسم كثيف له جدار سميك وتحتوى على كل مكونات الخلية ونسبة الرطوبة بها حوالى١٥ ٪، ويختلف موضع الجرثومة داخل الخلية فقد تكون وسطية أو طرفية وشكلها كروى أو بيضاوى أو اسطواني وقد تكون منتفخة Swelling أو غير منتفخة ، وعند توفر الظروف المناسبة تبدأ الجرثومة فى الإنبات لتكون خلية خضرية جديدة.

ويعتبر الكربون من العناصر الغذائية الهامة بالنسبة للبكتيريا حيث تقسم البكتيريا بالنسبة لمصادر الكربون والطاقة إلي الأقسام الأتية:

أ- بكتيريا غير ذاتية التغذية Heterotrophic bacteria

تحصل هذه البكتيريا علي احتياجاتها من الكربون والطاقة من مصادر عضوية Organic sources، وتمثل هذه المجموعة أغلب البكتيريا التي تعيش في التربة وتقوم بعديد من التفاعلات الهامة في تحليل المواد العضوية وتحولها إلي صور بسيطة ميسرة للنباتات مثل تحلل البروتينات ومعدنة الفوسفور العضوي، كما أن هذه المجموعة تحتوى علي أهم أنواع البكتيريا المثبتة للنيتروجين الجويNitrogen fixers.

ب-بكتيريا ذاتية التغذية Autotrophic bacteria

تحصل هذه البكتيريا علي احتياجاتها من الكربون اللازم لها من CO_2 ولا تحتاج إلي مواد عضوية لنموها ومن أهم هذه البكتيريا بكتيريا أكسدة الكبريت Sulphure oxidizing bacteria وبكتيريا التأزت Nitrifiers وبكتيريا الحديدIron bacteria.

ويوجد مجموعة اخري من البكتيريا تسمي السيانوبكتيريا ولها صفات مشتركة مع البكتيريا، بعض أنواعها يقوم بتثبيت الأزوت الجوي لذلك تستخدم كسماد حيوي في مزارع الأرز في الكثير من بلدان العالم مما يوفر استخدام الأسمدة الكيماوية ويحافظ علي البيئة من التلوث

Environment pollution. ولقد ركزت الدراسات الحديثة علي الأهمية الزراعية لبعض البكتيريا الزرقاء التي لها القدرة علي استخدام النيتروجين الغازى كمصدر للنيتروجين اللازم لنموها وبناء بروتوبلازم خلاياها وتنحصر هذه الخاصية في بعض أفراد مجموعة البكتيريا الزرقاء مثل *Nostoc* and *Anabaena*.

ثانياً: الأكتينوبكتيريا Actinobacteria

تختلف البكتيريا اختلافاً واضحاً عن الفطريات حيث يوجد الكثير من الخواص المورفولوجية التي تفصل بينهما، ويوجد مجموعة ثالثة من الكائنات الحية الدقيقة تقع بين البكتيريا البسيطة التركيب والفطريات فهي مجموعة تتداخل حدودها مع كل من المجموعة الأكثر بدائية والمجموعة الأكثر تطوراً وهي مجموعة الأكتينوبكتيريا والتى كانت تعرف قديما بإسم الأكتينوميسيتس.

ومصطلح أكتينوبكتيريا ليس له مدلول تقسيمي ثابت لأنها تقسم علي أنها من البكتيريا ، والأجناس المختلفة من هذه الكائنات الدقيقة في التربة تكون خيوطاً رفيعة متفرعة تتحول إلي ما يعرف بالميسيليوم Mycelium ، والخيوط المفردة يطلق عليها اسم هيفات Hyphae شكل [١ (٢) ٤] وهي تشبه الفطر في ثلاث صفات هامة هى:

١- الأكتينوبكتيريا تتميز بخاصية التفرع الكثير التي تميز الفطريات.

٢- معظم الأكتينوبكتيريا تكون ميسيليوم هوائى وكونيديات كما هو الحال في الفطر.

٣- عند نمو الأكتينوبكتيريا في البيئات السائلة نادرا ما تتكون عكارة Turbidity في المزرعة ، كما يحدث في البكتيريا ، ولكنها تظل علي حالة كتل متجمعة أو كرويات صغيرة مميزة.

وللأسباب السابقة قام علماء الفطريات قديما بضمها للفطريات تحت اسم الأكتينوميسيتس، ولكن حديثا قام علماء التصنيف الحديث للبكتيريا بتصنيفها تبع للبكتيريا فى تحت قسم الأكتينوبكتيريا (البكتيريا الخيطية) وليس الفطريات للأسباب الأتية:

١- تساوى قطر الهيفا مع قطر الخلية البكتيرية تقريباً.

٢- يتشابه تركيب الجدار الخلوى في كل من الأكتينوبكتيريا والبكتيريا.

٣- يتشابه التركيب الخلوى في كلا النوعين حيث لا تحتوى الأكتينوبكتيريا على غشاء نووى ولا على ميتوكوندريا.

٤- تكون بعض أنواعها جراثيم داخلية Endospores كما في البكتيريا.

٥- يتبعها جنس *Frankia* الذى يثبت النيتروجين وهى صفة لا توجد إلا في البروكاريوتا (الكائنات الحية الدقيقة بدائية النواة).

٦- الأكتينوبكتيريا حساسة لإنزيم Lysozyme مثل البكتيريا وهذا الإنزيم يحلل الجدار الخلوي البكتيري.

تنتشر الأكتينوبكتيريا انتشارًا واسعاً ، حيث توجد بأعداد وفيرة ليس فقط في التربة ولكن أيضاً في الأوساط البيئية الأخرى كالأسمدة العضوية Organic manures وقاع البحيرات وهي تنتشر في الطبقة السطحية من التربة ، كما توجد أيضاً في الأفاق السفلية حتى أعماق بعيدة . وهذه الميكروبات تلى البكتيريا من حيث وفرة الأعداد في التربة وأحياناً ما تتساوي معها في أعدادها الحية ، وتمثل الأكتينوبكتيريا الجزء الأكبر من المحتوى الميكروبى للأوساط البيئية ذات الـ pH المرتفع ، والأكتينوبكتيريا تستطيع أن تستخدم مصادر عديدة للكربون والطاقة مثل الأحماض العضوية Organic acids والسكريات البسيطة والمعقدة والليبيدات، كذلك تستطيع الأكتينوبكتيريا أن تستخدم الهيدروكربونات والسيليولوز والكيتين واللجنين وأن تحلل الكثير من المبيدات التي تصل إلي التربة الزراعية، ولذلك يطلق علي الأكتينوبكتيريا مصطلح كانسات التربة Soil scavenger أو الملتهمات Omnivorous .

أيضاً تستطيع الأكتينوبكتيريا أن تستخدم العديد من مصادر النيتروجين مثل الأمونيا والنترات والأحماض الأمينية والبروتينات ومن أهم الأجناس التي تنتشر في التربة الزراعية *Streptomyces, Nocardia, Micromonospora, Thermoactinomyces*

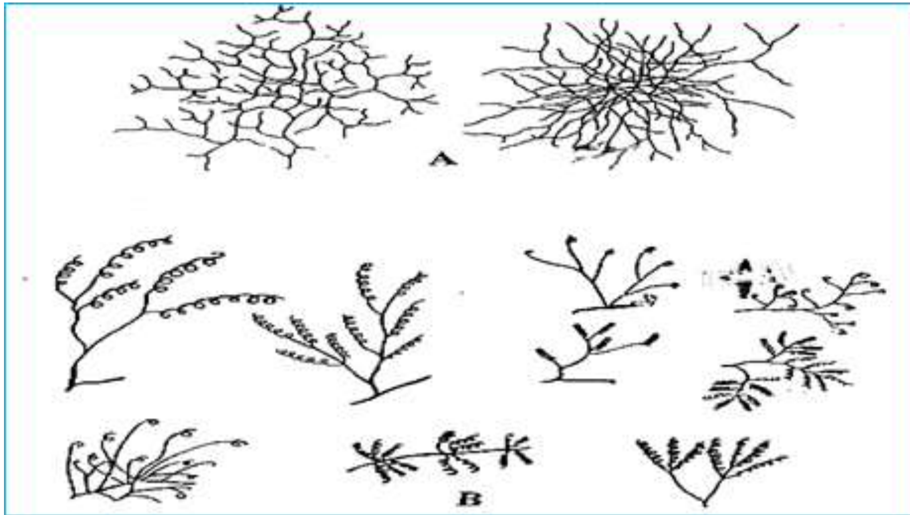
وتمثل الأكتينوبكتيريا نسبة تتراوح بين ١٠-٥٠٪ من العدد الكلي للميكروبات مقدراً بطريقة الأطباق في الأراضي البكر والأراضي الزراعية كما تزداد نسبة تواجدها في الأراضي القلوية خصوصاً عند جفافها. ومعظم جراثيم الأنواع التابعة لجنس *Streptomyces* الذي يعتبر أكثر الأجناس تواجداً في التربة يمكن أن تنبت تحت الظروف الطبيعية عندما يضاف إلي التربة مواد عضوية جديدة فتنمو الهيفات حول الأجزاء الدقيقة من المادة العضوية وعندئذ تتكون الجراثيم بوفرة في هذه المواقع الدقيقة من التربة Microhabitats والتي لا تزال تحتوى علي قدر مناسب من المادة العضوية ، ويلي ذلك اختفاء الميسيليوم ذاتياً عن طريق إنزيمات الميكروب نفسه أو إنزيمات الميكروبات الأخرى المجاورة له ، ووجود الكونيديات بصفة سائدة في التربة يشير إلي مقاومة هذه الجراثيم للعوامل البيئية الغير مناسبة، فكثير من الأنواع تقوم بتكوين جراثيم Spores تقاوم الجفاف بحيث يمكن لهذه الكونيديات أن تبقى في التربة الجافة هوائياً لعدة سنوات، ويمكن توضيح أهمية الأكتينوبكتيريا في العمليات التالية :

١- تحليل مكونات الأنسجة النباتية والحيوانية الصعبة Complicated التحلل وتشير ظاهرة عدم نشاط الأكتينوبكتيريا إلا بعد مدة إلي أنها تفتقر إلي القدرة علي التنافس Competition

مع البكتيريا والفطريات خلال فترة وجود المواد البسيطة ، ولكنها تصبح ذات قدرة فعالة في التنافس عندما لا يتبقى في التربة إلا المركبات المقاومة للتحلل.

٢- تكوين الدبال **Humus** عن طريق تحويل مخلفات النبات إلي مركبات مماثلة للجزء العضوي الأصلي في التربة، وتنتج الكثير من السلالات عند تنميتها في البيئات أنواعاً من المركبات المعقدة التركيب ذات الأهمية في تركيب دبال الأراضى المعدنية.

٣- القيام بالتحولات الحيوية في درجات الحرارة المرتفعة خصوصاً عند تحليل أكوام السماد العضوي **Compost** والأسمدة العضوية الحيوانية، حيث أن الأكتينوبكتيريا المحبة للحرارة العالية تكون لها السيادة إلي درجة أن تصبح أسطح كومات الأسمدة العضوية ذات لون أبيض أو رمادي وهي الألوان المميزة لهذه الأنواع.



شكل١ (٢) -٤: أشكال مختلفة من الأكتينوبكتيريا

٤- تسبب أنواعاً من الأمراض الكامنة **Latent diseases** في التربة مثل جرب البطاطس الذي تسببه بكتيريا ***Streptomyces scabies*** أو جدرى البطاطا الذي تسببه البكتيريا ***Streptomyces ipomoeae*** .

٥- بعض الأنواع مثل ***Frankia*** تثبت النيتروجين الجوى تكافلياً مع النباتات غير البقولية.

٦- تظهر أهميتها في مجال التضاد **Antagonism** الميكروبى وفي التوازن الميكروبي بين الكائنات الحية الدقيقة في التربة، ودور الأكتينوبكتيريا في النظام البيئي**Ecosystem** يمكن أن ينشأ عن قابلية أنواع عديدة منها لإفراز مضادات الحيوية أو الإنزيمات المحللة لخلايا الفطريات والبكتيريا، ومما يجدر الإشارة إليه في هذا المجال أنه عند إضافة بعض المواد مثل الكيتين إلي

التربة حيث يشجع تكوين الهيفات في الأكتينوبكتيريا بينما يؤدي في بعض الأحيان إلي تثبيط Inhibition الفطريات التي تسبب أمراضاً للنباتات الراقية.

ثالثاً: الفطـريـات Fungi

تعتبر الفطريات من الكائنات الحية الدقيقة التى تتميز بتكوين خلايا حقيقية النواة وهذه الخلايا إما أن تكون فردية ذات جدار خلوى صلب مثل أنواع الخمائر أو تكون بدون جدار خلوى مثل الفطريات اللزجة ، أو توجد الخلايا فى خيوط تعرف بالهيفات وتتجمع هذه الهيفات لتكون الميسليوم، والفطريات تتميز بأن خلاياها لا تحتوى على كلوروفيل أى تحصل على غذائها من تحلل المواد العضوية ولذا يطلق عليها كائنات عضوية التغذية Organotrophs وتتكاثر الفطريات جنسياً ولا جنسياً.

أهمية الفطريات Importance of fungi

١- تستخدم بعض الفطريات كغذاء للإنسان أو كعلف للحيوان ومن أهم الفطريات التى يستخدم جسمها الثمرى كغذاء للإنسان هو فطر عيش الغراب Mushroom، وفى الحرب العالمية الأولى والثانية اتجه الألمان لإنتاج كتلة حيوية غنية بالبروتين من بعض أنواع الخمائر وهو ما يطلق علية الأن اسم البروتين وحيد الخلية أو البروتين الميكروبى واستخدامها كغذاء للإنسان ويوجد أنواع من الخميرة يتم تنميتها على مواد خام رخيصة ومتوفرة لإنتاج علف حيوانى غنى بالبروتين وأطلق عليها خميرة العلف Fodder yeast، وتستخدم بعض الفطريات فى تسوية أنواع من الجبن وإعطائها نكهة مميزة مثل الجبن الروكفورت الذى يستخدم فى تسويته فطر *Penicillium roquefortii* والجبن الكممبرت الذى يستخدم فى تسويته فطر *Penicillium camembertii*.

٢- تساهم الفطريات بدور هام فى خصوبة التربة حيث تقوم بتحليل المخلفات الزراعية Agricultural residues فى التربة وهى عملية هامة لتغذية النبات وخصوبة التربة ، كما أن نمو هيفات وميسليوم الفطريات يؤدى إلى تماسك حبيبات التربة وزيادة مقدرتها على الاحتفاظ بالماء وخصوصاً فى الأراضى الرملية Sandy soil، كما أنه يوجد مجموعة من الفطريات يطلق عليها الجذور الفطرية أو الميكوريزا Mycorrhizae والتى تعيش معيشة تعاونية مع جذور كثير من النباتات النجيلية والبقولية وتقوم بإمداد النبات بالفوسفور وكثير من العناصر المغذية الأخرى.

٣- تستخدم بعض أنواع الخمائر (فطريات وحيدة الخلية) مثل *Saccharomyces cerevisiae* فى إنتاج كحول الإيثانول من المولاس وتستخدم بعض سلالات الخميرة فى إنتاج

كثير من المشروبات الكحولية **Alcoholic beverages** كالبيرة **Beer** والنبيذ **Wine** وتستخدم الخميرة السابقة الذكر فى إنتاج فيتامينات مجموعة ب المركبة والتى تستخدم فى الأغراض الدوائية. وتستخدم خميرة الخباز فى تخمير العجين حيث يتكون أثناء التخمير ثانى أكسيد الكربون الذى يعطى الشكل الإسفنجى والطعم المستساغ للخبز.

٤- تستخدم بعض الفطريات التابعة لجنسي ***Aspergillus, Rhizopus*** فى إنتاج الإنزيمات كما أن بعض سلالات جنس ***Aspergillus*** تستخدم فى إنتاج حمض الستريك الذى يستخدم فى بعض الصناعات الغذائية والدوائية**Pharmaceutical**.

تركيب خلية الفطر **Structure of fungus cell**

١- الجدار الخلوى **Cell wall**

الجدار الخلوى فى الفطريات يختلف عنه فى البكتيريا كما يختلف الجدار الخلوى باختلاف الفطريات فقد يحتوى على نسبه عالية من السيليولوز كما فى الفطريات البيضية أو قد يحتوى على نسبه عالية من الشيتين كما فى معظم الفطريات الراقية مثل الفطريات الأسكية والبازيدية، والجدار الخلوى يحيط بالخلية محدداً شكلها كما أنه يحمى السيتوبلازم من المؤثرات الخارجية كما يسمح بمرور بعض المواد ولا يسمح لغيرها.

٢- الغشاء السيتوبلازمى **Cytoplasmic membrane**

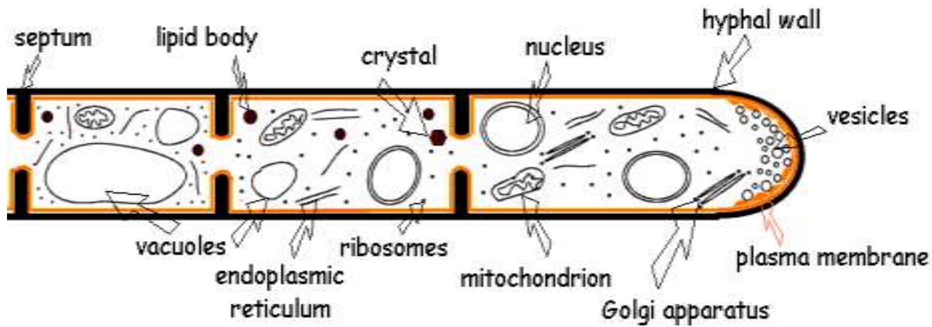
عبارة عن جدار رقيق يلى الجدار الخلوى وهو يتكون أساساً من الليبوبروتين ويحتوى على فوسفات وحمض الريبونيوكليك ، وهو غشاء شبه منفذ ينظم مرور المواد الغذائية الذائبة فى الماء وخروج نواتج عمليات التمثيل الغذائى.

٣- السيتوبلازم **Cytoplasm**

يظهر السيتوبلازم فى معظم الفطريات شفافاً ومحببا، فى بعض الأحيان قد يحتوى على صبغات كاروتينية ولكن لا يوجد بلاستيدات ملونه أو كلوروفيل، ويحتوى السيتوبلازم على النواة والميتوكوندريا والشبكة الإندوبلازمية وحبيبات دهنية وجليكوجين وأهم مكونات السيتوبلازم ما يلي:

أ- النواة **Nucleus**

تتكون النواة من جزئيين أحدهما ذو كثافة عالية ويسمى النوية وهى تحتوى على نسبة عالية من البروتين والليبيدات وهى مسئولة عن تكوين الريبوسومات ، أما الجزء الأخر من النواة فهو شفاف وتحاط النواة بغلاف يسمى الغلاف النووى وتتكون النواة من الحمض النووي **DNA** وقد تحتوى على كمية من الحمض النووي **RNA**.



شكل ١ (٢) – ٥: تركيب خلية الفطر

ب- الشبكة الإندوبلازمية Endoplasmic reticulum

توجد الشبكة الإندوبلازمية فى السيتوبلازم وهى تشبه تلك الموجودة فى الخلايا النباتية والحيوانية، وهى عبارة عن أجسام أنبوبية الشكل محاطة بغشاء وتلعب الشبكة الإندوبلازمية دوراً هاماً فى عملية التبرعم Budding فى خلايا الخميرة وربما تلعب دوراً هاماً فى انقسام الخلايا ويوضح شكل] ١ (٢) ٦] بعض الفطريات التى تساهم بدورٍ هام فى الحياة العملية.

ج- الميتوكوندريا Mitochondria

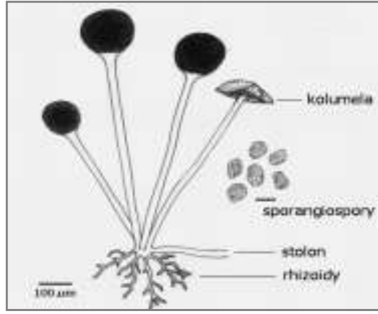
وهى جسيمات توجد فى السيتوبلازم ويختلف شكلها فقد تكون أسطوانية أو كروية أو غير محدودة الشكل ، وهى تتركب من غشاء من الليبوبروتين Lipoprotein به نسبه قليلة من حمض DNA ونسبه كبيرة من RNA وتحتوى الميتوكوندريا على الإنزيمات الخاصة بالأكسدة والاختزال.

د- الفجوة Vacuole

تظهر كجزء شفاف وتشغل جزء كبير من الخلية وقد توجد فجوة واحدة أو عديد من الفجوات الصغيرة وتحتوي الفجوة على إنزيمات التحلل المائى.

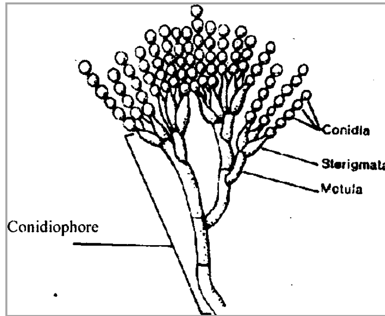
هـ- المواد المخزنة Storage materials

توجد الحبيبات الدهنية فى السيتوبلازم وتصل نسبة المواد الدهنية فى بعض الفطريات إلى ٥٠٪ من الوزن الجاف، أما الجليكوجين فهو عبارة عن مادة كربوهيدراتية توجد منتشرة فى السيتوبلازم.



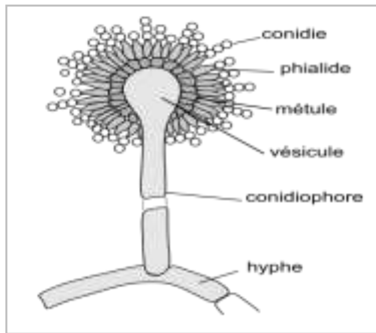


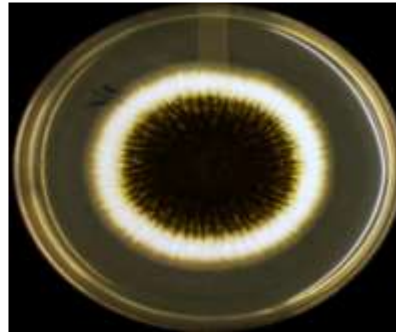
Rhizopus stolonifer





penicillium notatum





Aspergillus niger

شكل١ (٢) –٦: أشكال مختلفة من الفطريات ونموها على بيئة الأجار

فطريات الميكوريزا Mycorrhizae fungi

تمثل الميكوريزا أو الجذور الفطرية علاقة تعاون بين الفطريات والجذور النباتية وخلال هذه العلاقة يتواجد جزء من الميسليوم الفطرى في أنسجة العائل والجزء الأخر بالتربة المحيطة بالجذور حيث ينتشر بها وفي معظم الأحوال فإن العوائل المصابة بهذه الفطريات تنمو بدرجة تفوق تلك غير المصابة.

أنواع فطريات الميكوريزا Types of mycorrhizae

١-الميكوريزا الداخلية Endotrophic mycorrhizae

تشتق التسمية من التركيبات التي يكونها الفطر داخل أنسجة العائل فالتفرعات الشجيرية عبارة عن تفرعات ثنائية لهيفات الفطر داخل خلايا العائل كما يتضح من شكل[١ (٢) -٧] ، ووجودها لا يضر بالغشاء الخلوى والتفرعات الشجيرية هي التي يتم من خلالها عملية تبادل المواد الغذائية بين كل من الفطر والعائل (الكربوهيدرات والأحماض الأمينية من النبات للفطر والفوسفات والعناصر المعدنية من الفطر للعائل).

٢-الميكوريزا الخارجية Ectorophic mycorrhizae

وهي التي ترتبط بالأشجار والشجيرات التي تعيش في المناطق التي يكون النمو فيها موسميا وقد وجد أحد العلماء أن ٣٪ فقط من النباتات الزهرية تتكافل مع الميكوريزا الخارجية ولكنها تتضمن أنواعا تسود في مناطق عديدة.

أهمية فطريات الميكوريزا Importance of mycorrhizae fungi

١- تزيد هذه الفطريات من مساحة سطح المجموع الجذري للنبات.

٢- تقوم هذه الفطريات بإفراز إنزيم الفوسفاتيز والذي يزيد من تيسر الفوسفات العضوية.

٣- لفطريات الميكوريزا تأثير منشط علي امتصاص العناصر Elements nutrition الأخرى غير الفوسفور مثل النيتروجين.

٤- تزيد هذه الفطريات من قدرة النبات علي امتصاص المياه بسبب زيادة سطح المجموع الجذري.

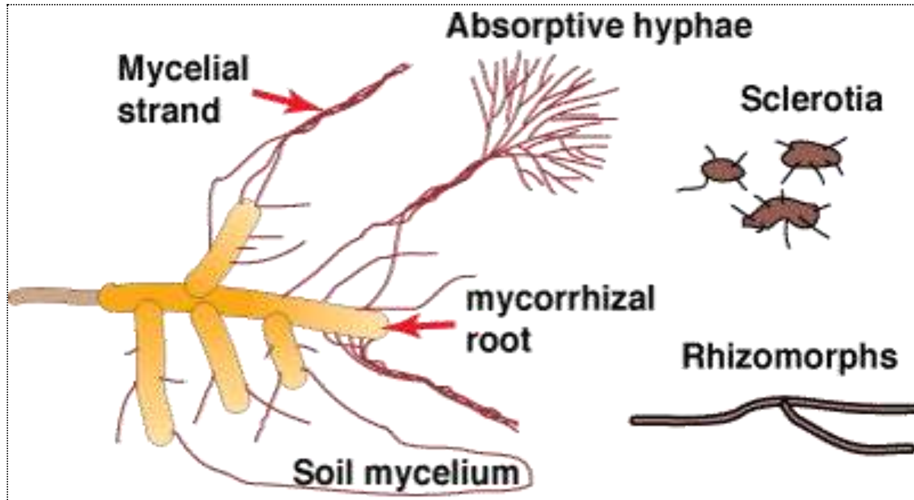
٥- تزيد فطريات الميكوريزا من قدرة الجذور علي إفراز الأحماض العضوية وثاني أكسيد الكربون مما يؤدي إلي زيادة تيسر العناصر الغذائية في التربة.

٦- لفطريات الميكوريزا القدرة علي إفراز بعض المواد المنشطة Analeptic للنمو مثل الأوكسينات والجبريللينات والسيتوكينينات.

٧- تؤدي إلي حماية النباتات من بعض الأمراض المحمولة في التربة.

٨- تعمل فطريات الميكوريزا علي تجميع Aggregation حبيبات التربة.

٩- يمكن استخدام فطريات الميكوريزا كلقاح حيوى Bio-inoculum مذيب للفوسفات في الأراضي الملحية حيث وجد أنها تتحمل تركيزات عالية من الملوحة.



شكل١ (٢) –٧: فطر الميكوريزا وتكوين شبكة من الميسيليوم على جذور النبات

رابعاً: الطحالب Algae

الطحالب عبارة عن كائنات مائية قد تكون وحيدة الخلية أو عديدة الخلايا كما يتضح من [شكل ١ (٢)–٨]، وتتميز الطحالب بوجود صبغة الكلوروفيل التي تمكنها بالقيام بعملية التمثيل الضوئي. تنتشر الطحالب في كل الأراضى تقريبا وأعداد هذه الكائنات لا يصل إلي الأعداد التي توجد بها البكتريا والفطريات، ونظراً لقلة أعدادها فإنها لم تحظ بقدر كاف من الاهتمام بالإضافة لاحتياجها لقدر كافي من أشعة الشمس حتى يمكنها القيام بعملية التمثيل الضوئي.

الأقسام الرئيسية للطحالب Main divisions of algae

- الطحالب الخضراء : وهي الأكثر شيوعا وانتشارا في الأوساط المائية.
- الطحالب الحمراء : وهي أعشاب بحرية كبيرة الحجم ذات لون احمر.
- الطحالب البنية: وهي أعشاب بحرية بنية اللون.
- الطحالب الصفراء (الدياتومات) : وتتميز هذه الطحالب بأنها مغلفة بجدار صلب من السيليكا.

أهمية الطحالب Importance of algae

١– نمو الطحالب علي سطح التربة يزيد من نسبة المادة العضوية فيها.

٢– الطحالب سريعة النمو في البحار والمياه العذبة وتعتبر الغذاء الرئيسي للأسماك والأحياء البحرية.

٣– يساعد نمو الطحالب علي تحلل الصخور Rocks decomposition.

٤– يستخرج اليود من بعض أنواع الطحالب البحرية وخصوصاً الطحالب البنية.

٥– تستخدم بعض أنواع الطحالب التي يلفظها البحر كسماد بعد تخليصها من الأملاح.

٦- يؤدي موت الدياتومات بأعداد ضخمة علي شواطئ البحار Sea beach إلى تكوين ترسبات وهو ما يسمي بالطين الدياتومي وتستخدم هذه الترسبات في صناعات كثيرة مثل المرشحات، كما تستخدم كمواد عازلة Dielectric ضد الحرارة المرتفعة في الأفران.



شكل ١(٢) -٨: أشكال مختلفة من الطحالب

٧- بعض أنواع الطحالب البحرية تجمع وتستخدم كغذاء للإنسان في بعض دول جنوب شرق أسيا.

٨- نمو الطحالب في خزانات المياه Reservoir water يغير من لونها ورائحتها وتجعلها غير مناسبة للاستخدام الآدمي.

٩- تستخدم بعض أنواع الطحالب في استخراج مادة الأجار التي تستخدم في تحضير البيئات الغذائية لتنمية الميكروبات.

(الباب الثانى-الفصل الأول)

دور الكائنات الحية الدقيقة في خصوبة التربة

Role of microorganisms in soil fertility

تتكون التربة الزراعية نتيجة مجموعة من التفاعلات الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية بين الصخر الأصلى Bed rock والعوامل المناخية والكائنات الحية الموجودة بالتربة، لذلك فإذا نظرنا إلي التربة نجد أنها ليست وسط مصمت نتج بسبب عوامل التعرية Weathering للصخور وإنما نجد أن التربة وسط بيئي للكائنات الحية يتميز بديناميكية عالية من حيث احتوائه علي كائنات حية دقيقة وغير دقيقة قادرة علي القيام بالعديد من التفاعلات البيولوجية Biological reactions والتي تؤدي في النهاية إلي رفع خصوبة التربة بحيث تكون وسطا ملائماً لنمو النباتات، ومن الحقائق العلمية المؤكدة أنه بدون الكائنات الحية الدقيقة الموجودة في التربة لانعدمت الحياة علي سطح كوكب الأرض .

وتعتبر التربة أكبر مخزن للكائنات الحية علي سطح الكرة الأرضية globe وذلك بالمقارنة بالهواء أو الأوساط المائية، ومن المعروف جيداً أن الكائنات الحية الدقيقة تتواجد في التربة مرتبطة بحبيباتها حيث تقوم بالعديد من العمليات الميكروبيولوجية المفيدة Beneficial للتربة والنبات مثل معدنة المواد العضوية التي يترتب عليها تيسر العناصر الغذائية اللازمة لتغذية النبات ، تثبيت أزوت الهواء الجوي ، القدرة علي إفراز الكثير من المواد المشجعة للنمو والحفاظ علي استمرارية دورات العناصر في الطبيعة وقدرتها علي التخلص من الملوثات البيئية المختلفة.

أهم أجناس البكتيريا في التربة

يمكن تقسيم أنواع البكتيريا إلي مجاميع خاصة تبعاً لصفاتها المورفولوجية، ونظرًا للتباين الكبير في أعداد وأنواع بكتيريا التربة فإنه يصعب وصف جميع أنواعها أو تحديد تقسيم شامل يضم جميع السلالات وحتى عمل توصيف لبكتيريا التربة علي أساس صفاتها المورفولوجية يعتبر أمراً صعباً لأن كثيرًا من الأنواع السائدة Predominant في التربة تتعدد أشكالها المزرعية تبعا لاختلاف عمر الخلايا ولمكونات البيئات الغذائية النامية عليها.

وأهم الأجناس البكتيرية التي يكثر وجودها في التربة، أو تلك التي لها وضع خاص متميز هى التي تنتمي إلي الأجناس التالية :

Agrobacterium, Arthrobacter, Bacillus, Brevibacterium, Clostridium, Corynebacterium, Flavobacterium, Micrococcus, Mycobacterium,

Pseudomonas, Sarcina, Staphylococcus, Streptococcus* and *Xanthomonas.

ومن الواضح أن أنواع Pseudomonads واسعة الانتشار في الأراضى المزروعة وغير المزروعة ، وأنها يمكن أن تتواجد بأعداد تزيد عن المليون خلية في الجرام من التربة ، أما البكتيريا من أنواع Arthrobacters فإنها توجد بأعداد وفيرة في التربة مما يجعل لها دور أساسي وهام في التربة، وقد يرتبط هذا الدور بقدرتها العالية على تحليل المواد العضوية، وبالنسبة لجنس *Arthrobacter* فإنه من الصعب وضع حدود واضحة له، حيث يتداخل معه في الصفات أجناس أخرى مشابهة أهمها جنس *Corynebacterium* الذي يكثر وجود الأنواع الرمية منه في التربة، ويطلق مصطلح Coryneform علي سلالات كل من جنسى *Arthrobacter* and *Corynebacterium* وهي التي تتميز بأنها بكتيريا عصوية غير متجرثمة ، موجبة لصبغة جرام ، غير متحركة ، تميل خلاياها لأخذ أشكال غير منتظمة. وتنتمي لمجموعة Coryneforms أيضا أنواع البكتيريا الصامدة للأحماض من جنس *Mycobacterium* وهي كائنات دقيقة اقل انتشارا في التربة، ولكنها في بعض الأحيان يمكن أن تصل أعدادها إلي حوالى مليون خلية في الجرام من التربة.

ومن السهل عزل أنواع البكتيريا التابعة لجنس *Bacillus* وغيره من البكتيريا المتجرثمة عن طريق بسترة معلق التربة علي درجة حرارة ٨٠° م لمدة ١٠–٢٠ دقيقة لقتل الخلايا الخضرية مع بقاء الجراثيم الداخلية حية، ومن خلال التنمية الهوائية يمكن استبعاد الأنواع المتجرثمة اللاهوائية الأخرى الشائعة الانتشار التي تتبع جنس *Clostridium* . وتوجد الأنواع من جنس *Bacillus* بأعدادٍ كبيرة في التربة تتراوح بين $١٠^{٦}$ – $١٠^{٧}$ في الجرام وقد يزيد عن ذلك، وتوجد البكتيريا اللاهوائية التابعة لجنس *Clostridium* في معظم الأراضى الخصبة علي الرغم من توفر O_2 بشكل واضح ، لأن وجود ظروف هوائية كاملة هو أمر لا يحدث في الواقع تحت الظروف الطبيعية للتربة ، فنشاط الميكروبات الهوائية واللاهوائية اختياراً التي تستهلك O_2 وتنتج بدلا منه CO_2 تعمل علي خفض الضغط الجزيئى للأوكسجين إلي الحد الذي يسمح بنمو الأنواع اللاهوائية حتماً، وعادة ما يحدث هذا داخل تجمعات حبيبات التربة وأيضاً في المناطق السيئة الصرف، وتوجد البكتيريا من جنس *Clostridium* بأعداد تتراوح بين $١٠^{٥}$ – $١٠^{٦}$ في الجرام من التربة ، وجميع الأنواع التابعة لهذا الجنس تكون جراثيم داخلية مقاومة للحرارة كما تتميز بأنها تنمو لاهوائياً.

دورة الكربون Carbon cycle

من المعروف أن العناصر المختلفة الموجودة فى الطبيعة تمثل محصلة الاتزان بين الكمية الناتجة من هذه العناصر والكمية المستهلكة منها بواسطة الأنظمة الطبيعية والبيولوجية المختلفة ، تسمى جميع المناطق التى تقطنها الأحياء على سطح كوكب الأرض بالغلاف الجوى Biosphere، ويوجد هذا الغلاف بصفة عامة فى حالة اتزان مستمر حيث يرجع هذا الاتزان إلى الأنشطة البيولوجية المختلفة والتى تحدث على سطح كوكب الأرض والتى من شأنها إتمام دورات العناصر فى الطبيعة وأى خلل يحدث فى هذه الدورات عند أى مرحلة قد يؤدى إلى القضاء على جميع صور الأحياء الأخرى، ومن أهم هذه الدورات الضرورية للحياة دورة الكربون والنيتروجين والفوسفور والكبريت.

دور الكائنات الحية الدقيقة في تحولات الكربون في التربة:

Role of microorganisms in carbon transformation in soil

تثبيت واختزال ثاني أكسيد الكربون

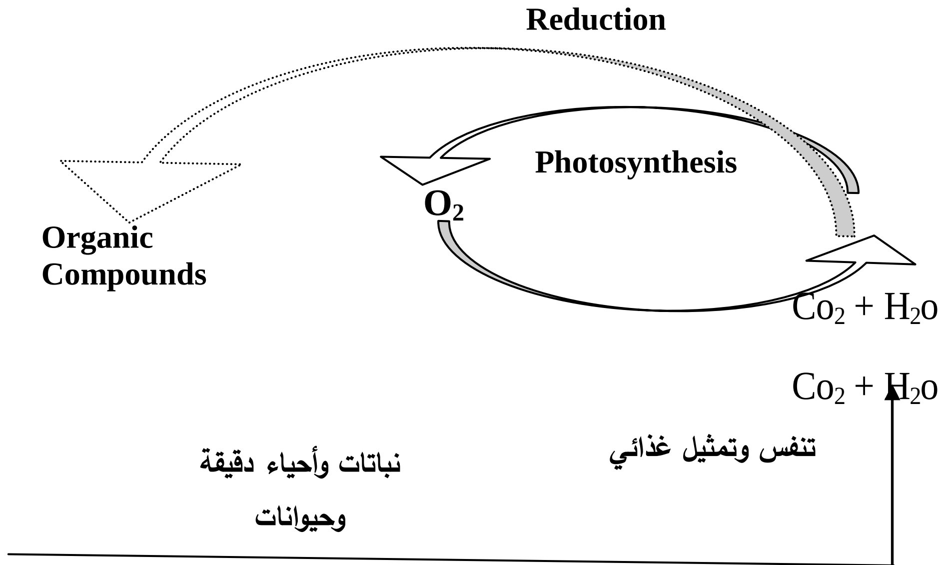
Fixation and reduction of carbon dioxide

أثبتت كل الدراسات البيوكيميائية Biochemical studies أن المصدر الأساسي للمركبات العضوية الكربونية في الطبيعة هو ثاني أكسيد الكربون والذي ينتج بصفة أساسية من تنفس الكائنات الحية الحيوانية سواء الغير راقية أو الراقية وكذلك الناتج من تحلل المواد العضوية سواء في الظروف الهوائية أو اللاهوائية والذي يتم بواسطة الكائنات الحية الدقيقة مثل البكتيريا والفطريات الأكتينوبكتيريا، ولقد أوضحت بعض الدراسات أن الغلاف الجوي المحيط بسطح الكرة الأرضية يحتوي علي ٧٠٠ بليون طن ثاني أكسيد الكربون معظمها ينتج من تحلل المواد العضوية.

تعتبر عملية تثبيت Fixation واختزال Reduction ثاني أكسيد الكربون من العمليات الهامة التي تؤدي إلي استرجاع ثاني أكسيد الكربون من الغلاف
الحيوي حيث يتم تخزينها في المواد العضوية المختلفة بواسطة النباتات والكائنات الحية الدقيقة مثل الطحالب والبكتيريا الأوتوتروفية (ذاتية التغذية) ، وبالنظر إلي نواتج عملية تثبيت واختزال CO_2 نجد أن هذه العملية هي المصدر الأساسى للأكسجين عامل الحياة الأساسي للإنسان والحيوان علي سطح الكرة الأرضية كما يتضح من شكل [٢ (١)-١].

وفي حالة البكتيريا الأوتوتروفية (بكتيريا الكبريت) يعتبر CO_2 الموجود بالهواء الجوي هو مصدر الكربون الوحيد لهذه البكتيريا ونتيجة لعملية التثبيت والاختزال نجد أنه يتحول إلي

كربوهيدرات. كذلك يتضح أن عملية تثبيت ثانى أكسيد الكربون تحافظ علي الاتزان بين نسبة الأكسجين في الهواء الجوي ونسبة ثاني أكسيد الكربون حيث تنخفض نسبة CO_2 إلي ٠.٠٣ ٪ وترتفع نسبة الأكسجين إلي ٢١٪ ، أيضاً من فوائد هذه العملية أنها تحد من التلوث الناتج من حرق المخلفات العضوية Residues burning وذلك باستهلاك ثاني أكسيد الكربون الناتج عن عملية الحرق، كما أن هذه العملية هي المصدر الأساسي للمركبات العضوية والتي تمثل مصدر الطاقة سواء بطريقة مباشرة أو غير مباشرة لجميع صور الحياة ، حيث تستهلك الكائنات الحية الممثلة للضوء CO_2 وتنتج مواد عضوية لذلك يطلق علي مثل هذه الكائنات المنتج الأساس Primary producer نظرا لأنها تقوم بتثبيت الطاقة الضوئية وإنتاج الغذاء للأحياء الأخرى سواء بطريقة مباشرة أو غير مباشرة ، بينما يطلق علي الحيوانات أكلة العشب والطحالب المستهلك الأول Primary consumer وقد تصبح كائنات مجموعة المستهلك الأولي نفسها طعاماً لأحياء أخري مثل أكلات اللحوم ولذلك تسمي أكلات اللحوم بالمستهلك الثاني Secondary consumer وتمثل كائنات مجموعة المستهلك الثاني طعاماً لأحياء أخري مكونة بذلك سلسلة من المستهلكين تعرف باسم سلسلة الغذاء Food chain.



شكل ٢(١) -١: اختزال غاز CO_2 وتكوين غاز O_2

أ) تثبيت واختزال CO_2 بواسطة النباتات الراقية والطحالب.



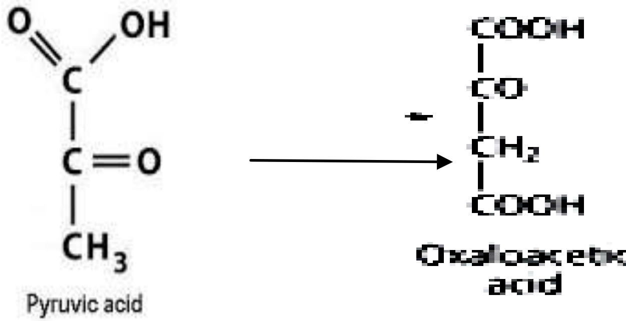
$$6\,CO_2 + 6H_2O \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2$$

ب) تثبيت واختزال CO_2 بواسطة البكتريا الأوتوتروفية.



ج) تثبيت واختزال CO_2 بواسطة البكتريا الهتيروتروفية.

حمض بيروفيك + CO_2 ⟵ حمض أكسالوأسيتيك



تحلل المادة العضوية وانطلاق ثاني أكسيد الكربون

Decomposition organic matter and CO_2 release

تتعدد أنـواع المركبـات العضـوية التـي يمكـن للكائنـات الدقيقـة تحليلهـا مثـل الأحمـاض العضوية، السكريات العديدة، اللجنين، الهيدروكربونات العطريـة والأليفاتيـة، السكريات، الكحولات، الأحمـاض الأمينيـة، قواعد البيـورين والبيريميـدين، الليبيـدات والأحمـاض النوويـة حيث يمكـن أن يهاجمها نوع أو أخر من الكائنات الدقيقة. خـلال مراحل تحلل المـادة العضوية يمكن تمييز ثـلاث عمليات منفصلـة تسير جنباً إلـي جنـب، الأولـى هـي اختفـاء الأنسـجة النباتيـة والحيوانيـة بتـأثير الإنزيمات الميكروبية، وفي نفس الوقت يتم تخليق خلايا ميكروبيـة جديـدة فتظهر أنـواع البروتين والسكريات العديـدة والأحمـاض النوويـة الخاصـة بالبكتيريـا والفطريـات، أمـا العمليـة الثالثـة فهـي تكوين نـواتج التمثيـل الغذائي التـي تفرزهـا الميكروبـات والتـي يمكـن أن تتـراكم فـي التربـة أو يعـاد تمثيلها مرة أخرى، ويوجد نوعين من عمليات تحليل المادة العضوية لهما أهمية عند أكسدة المـادة العضوية وتحللها فـي التربـة وهمـا تحليـل المـادة العضوية الأصلية للتربـة وتحلـل المـواد العضـوية المضافة.

فيما يتعلق بالعملية الأولى فإن تحلل المادة العضوية الأصلية (الدبال) يشير إلي أن هذه الصورة من كربون التربة في متناول الميكروبات، وبالنسبة للعملية الثانية فإن CO_2 المنطلق من خلال عمليات إضافة المواد العضوية السهلة التحلل نسبيا ما هو إلا مقياس لقدرة تحليل هذه

المواد حيوياً، ويطلق لفظ معدنة Mineralization علي عملية تحويل الصورة العضوية لعنصر معين إلي صورة غير عضوية.

تحلل المادة العضوية الأصلية (الدبال)

Decomposition of origin organic matter(Humus)

يختلف معدل انطلاق CO_2 خلال مراحل معدنة الدبال Humus اختلافاً كبيراً تبعا لنوع التربة حيث يتراوح في اليوم الواحد ما بين ٥ إلي ٥٠ مليجرام CO_2 لكل كيلوجرام تربة، ولكن في بعض الأحيان يمكن أن تنطلق كميات أكبر من ذلك، أما في الحقل فإن المعدل اليومي لانطلاق CO_2 فيتراوح ما بين ٥-١٠ جرام للمتر المربع، ويمكن أن يزيد في بعض الأحيان إلي ٢٥ جرام، علي أية حال فإن تقدير CO_2 المنطلق تحت الظروف الحقلية يتضمن CO_2 الناتج من تنفس الجذور وحيوانات التربة بالإضافة إلي الكميات الناتجة عن النشاط الميكروبي. كما أن النتائج المتحصل عليها تتوقف علي درجة الحرارة ومستوي الرطوبة في التربة بالإضافة إلي الفترة التي تم فيها التقدير خلال اليوم والموسم، ومن أرقام التقديرات الحقلية يتضح أن حوالي٢- ٥٪ من كربون الدبال يمكن أن يتحول إلي الصورة المعدنية، ومن ذلك يتضح أن هناك معدنة لجزء كبير من المادة العضوية الأصلية كل عام ولكن هذه الكميات التي تفتقد يتم تعويضها بوصول المواد العضوية النباتية إلي التربة ، وكمية الكربون المتحول إلي الصورة المعدنية مرتبط مباشرة بكمية الكربون العضوي في التربة بمعني أن كمية CO_2 المنطلق تتناسب طرديا مع مستوي المادة العضوية في التربة. والدبال مادة غير محددة التركيب الكيميائي ولكن الدبال يعتبر مجموعة من المواد المعقدة في التركيب إلا أنه يحتوي علي كمية قليلة من المواد القابلة للذوبان في الماء مثل السكريات البسيطة والأحماض الأمينية ولكن معظم المواد الكيميائية الموجودة في الدبال لا تذوب في الماء وهي ذات لون بنى أو مائل للسواد، وعموماً فإن المواد الدبالية توجد علي ثلاث صور هي:

١- حمض الهيوميك Humic acid

وهذا الحمض يمكن استخلاصه بالمواد القلوية ويترسب من المستخلص بالأحماض.

٢- حمض الفولفيك Fulvic acid

وهذا الحمض يمكن أن يستخلص أيضا بالقلويات ولكن لا يترسب من المستخلص بالأحماض وبذلك يمكن فصله عن حمض الهيوميك.

٣- الهيومين Humin

وهو الجزء من الدبال الذي لا يمكن استخلاصه من الدبال بالمواد القلوية.

وحمض الهيوميك مقاوم للتحلل الميكروبي حيث يتحد مع اللجنين والبروتين ويتركب من نواة عطرية ناتجة من بلمرة المركبات الفينولية أما حمض الفولفيك فهو يتكون من الكربوهيدرات والبروتين بينما الهيومين فهو عبارة عن تركيب غير متجانس من البقايا النباتية التي لم تصل إلى التحلل الكامل ويحتوي بداخله علي حمض هيوميك متحد مع الطين الغروي.

أهمية الدبال في التربة الزراعية

١- يمثل مخزون التربة من المادة العضوية.

٢- يساهم الدبال بدورٍ هام في تحسين بناء التربة من خلال تجميع الحبيبات .

٣- يحسن من التهوية في الأراضي الثقيلة.

٤- يزيد من احتفاظ الأرض الخفيفة بالماء.

٥- يعتبر ذو سعة تبادلية أيونية عالية مما يوفر الكثير من العناصر المغذية للنبات.

٦- يزيد من قدرة الأرض التنظيمية **Buffering capacity**.

٧- يعمل على تدفئة التربة مما يحسن من عملية الإنبات.

معدنة مركبات الكربون العضوية

Mineralization of organic carbon compounds

تعتبر المواد العضوية المخزن الرئيسي لكثير من العناصر الغذائية الضرورية لنمو النبات ، والعناصر الموجودة في المادة العضوية تكون أساسا في صورة معقدة لا تستطيع النباتات الاستفادة منها ، لذلك لابد من تحلل مثل هذه المواد العضوية وانطلاق ما بها من عناصر غذائية في صورة معدنية يستطيع النبات الاستفادة منها ، وتحلل هذه المواد العضوية يتم بواسطة الكائنات الحية الدقيقة ، ومن المعروف أن المواد العضوية الكربونية (الكربوهيدرات) تختلف في سرعة تحللها فمنها ما هو سريع التحلل مثل السكريات البسيطة يليها السكريات المعقدة مثل النشا والسيليولوز ، ومنها ما هو بطيء التحلل مثل اللجنين والشموع.

وهذه المواد تتحلل تحت الظروف الهوائية **Aerobic conditions** تحللاً كاملاً إلي CO_2 + H_2O ، أما تحت الظروف اللاهوائية **Anaerobic conditions** فإن التحلل يكون غير كاملاً حيث تتحلل إلي أحماض عضوية وكحولات وألدهيدات مع تصاعد بعض الغازات مثل الميثان وثاني أكسيد الكربون والأيدروجين ، وسنلقي الضوء فيما يلي علي تحلل بعض المواد العضوية الكربونية بواسطة الكائنات الحية الدقيقة.

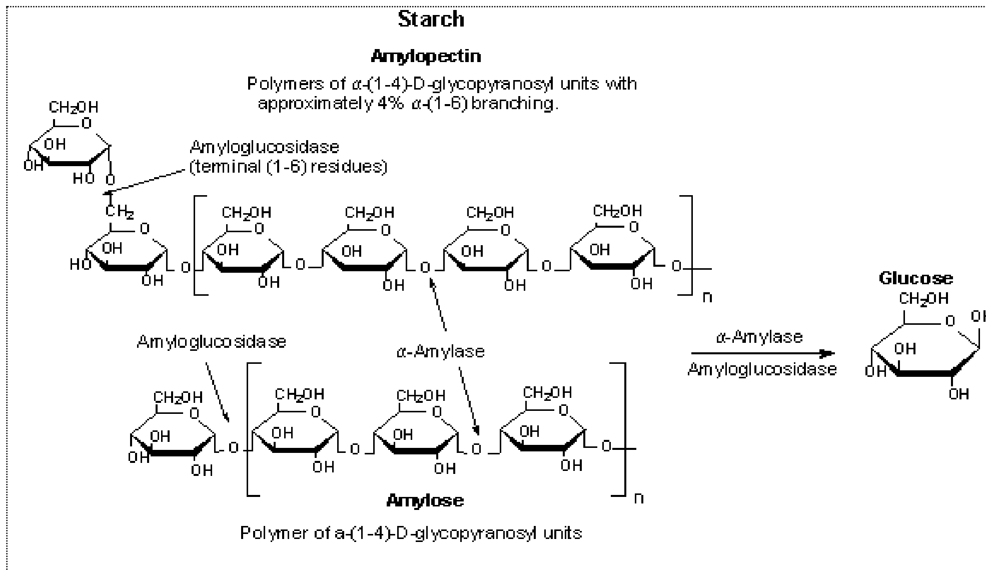
تحليل النشا Starch decomposition

التركيب الكيميائي للنشا Chemical structure of starch

يتركب جزئ النشا من وحدات من الجلوكوز مرتبطة مع بعضها بروابط جليكوسيدية من النوع ألفا، حيث يتكون النشا من نوعين من المركبات هما الأميلوز والأميلوبكتين ، وفي الأميلوز تكون الروابط من النوع $\alpha -1,4$ **glycosidic linkage** أما الأميلوبكتين فيتكون من سلاسل من وحدات الجلوكوز مرتبطة بنفس النوع من الروابط ولكنها متفرعة وعند التفرع يتكون روابط في الوضع $\alpha - 1,6$ كما يوضح شكل [٢ (١)-٢].

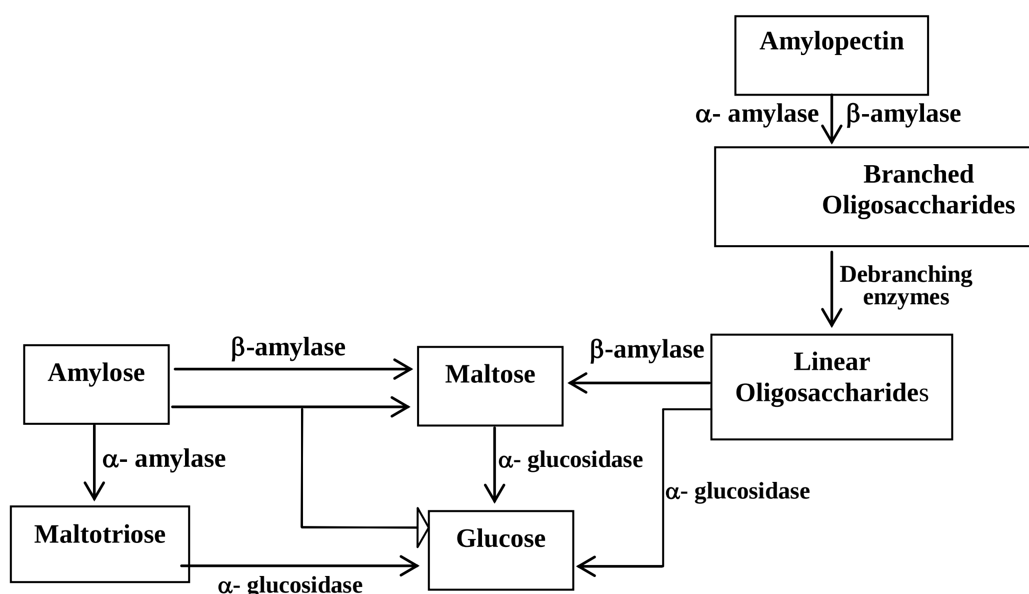
ميكانيكية التحلل Decomposition mechanism

يتحلل النشا بسرعة بواسطة الكائنات الحية الدقيقة سواء في الظروف الهوائية وينتج $CO_2 + H_2O$ أو في الظروف اللاهوائية وينتج من التحلل أحماض عضوية وكحولات وجزئ النشا ذو وزن جزيئي كبير ولذلك لا تستطيع الكائنات الحية الدقيقة الاستفادة من النشا إلا بعد إفراز إنزيمات خارج الخلية ومنها إنزيم α – **amylase** الذي يحلل الروابط الجليكوسيدية الموجودة في الأميلوز أو الأميلوبكتين بطريقة عشوائية ولكنه غير قادر علي تحليل الروابط المتفرعة.



شكل٢(١) -٢: التركيب الكيميائي للنشا

أما إنزيم β – amylase فإنه يحلل جزئ النشا بانتظام حيث يقوم الإنزيم بتحليل الروابط الجليكوسيدية ويكون التحلل عند الرابطة الثانية وينتج وحدات من السكر الثنائي المالتوز ثم يتحول المالتوز إلي جلوكوز بواسطة إنزيم المالتيز أو الجلوكوسيديز بالإضافة إلي هذه الإنزيمات فقد وجد أن بعض الكائنات الحية الدقيقة المحللة للنشا تفرز إنزيم **Gamma amylase** ويسمي **Glucoamylase** وهذا الإنزيم يحلل وحدات الجلوكوز من نهاية جزئ النشا والجلوكوز الناتج من التحلل إما أن يتحلل هوائيا إلي CO_2+H_2O أو لا هوائيا إلي أحماض عضوية وكحولات تبعاً لظروف التحلل كما يوضح شكل[٢(١)–٣]، والكائنات الحية الدقيقة التي تستطيع إنتاج إنزيمات **Amylases** كثيرة ومتنوعة مثل العديد من البكتيريا والفطريات والأكتينوبكتيريا.



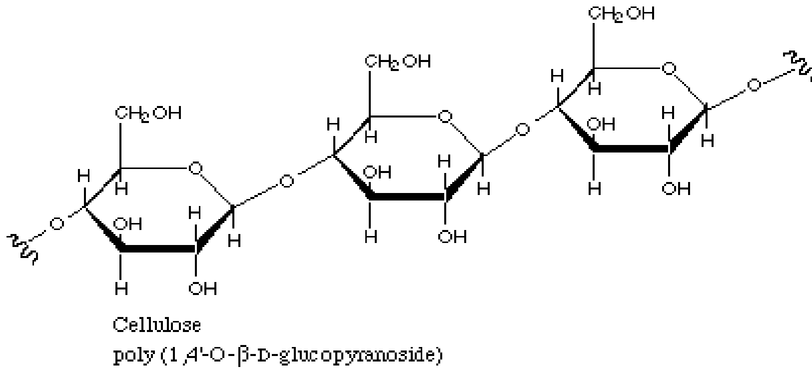
شكل٢(١) –٣: خطوات تحلل النشا إلي جلوكوز (Alexander,1982)

ويمكن الاستفادة في الحياة العملية من قدرة الكائنات الحية الدقيقة علي تحلل النشا بتنمية مثل هذه الكائنات علي المخلفات التي تتميز بارتفاع محتواها من النشا لإنتاج الجلوكوز أو الأحماض العضوية والكحولات حيث تستخدم هذه النواتج في كثير من الصناعات.

تحلل السيليولوز Cellulose decomposition

التركيب الكيميائي للسيليولوز Chemical structure of cellulose

يعتبر السيليولوز المكون الأساسي للمخلفات النباتية حيث تصل نسبته إلي ٦٠ ٪ من تركيب تلك المخلفات. يتكون السيليولوز من وحدات من الجلوكوز مرتبطة مع بعضها بروابط جليكوسيدية من النوع بيتا ١-٤ كما يوضح شكل[٢ (١) -٤].



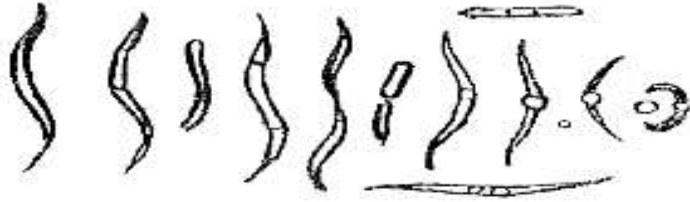
شكل٢(١) -٤: التركيب الكيميائي للسيليولوز

ومما هو جدير بالذكر أن الرابطة بيتا أصعب في تحليلها من الرابطة ألفا. ونظرا لأن التركيب الكيميائي للسيليولوز مكون من وحدات جلوكوز مرتبطة بروابط من النوع بيتا فإنه يوجد عدد قليل من الكائنات الحية الدقيقة قادر على تحليل السيليولوز مقارنة بتحليل النشا.

الكائنات المحللة للسيليولوز Cellulose decomposers

عملية التحلل تتم بواسطة كائنات حية دقيقة متخصصة في تحليل هذا النوع من الروابط مثل البكتريا دقيقة متخصصة في تحليل هذا النوع من الروابط مثل البكتيريا الهوائية التي تنتمي إلي جنس ***Cytophaga*** شكل [٢(١)-٥] مثل الأنواع ***Cy. lytica , Cy. rubra*** وكذلك بعض الأنواع البكتيرية التي تنتمي إلي جنس ***Bacillus and Pseudomonas.*** كذلك يوجد بعض أنواع من البكتيريا اللاهوائية القادرة علي تحليل السيليولوز مثل ***Cl.dissolvens*** وهي بكتريا ميزوفيلية وبكتيريا ***Cl. thermocellum*** وهي بكتيريا ثرموفيلية شكل [٢ (١)-٦]، ومعظم الأكتينوبكتيريا أيضاً قادرة علي تحليل السليولوز في الظروف الهوائية مثل بعض الأنواع التي تنتمي إلي أجناس ***Streptomyces , Nocardia*** and ***Micromonospora*** شكل[٢(١)-٧].

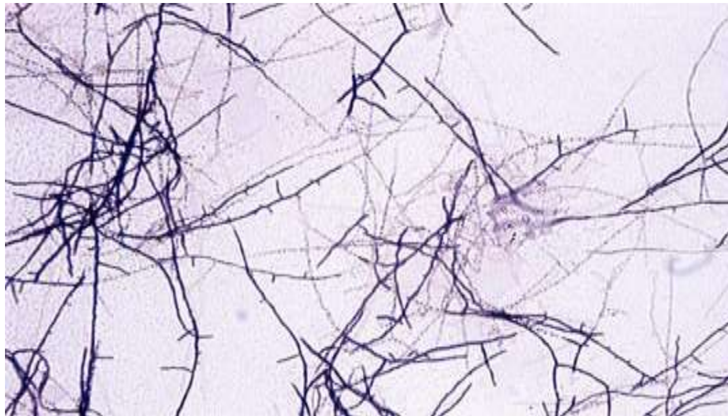
ومن الفطريات التي تلعب دورًا هاماً في تحليل السيليولوز هوائيا بعض الأنواع التي تنتمي إلي أجناس ***Aspergillus , Fusarium, Penicillium, Alternaria*** ***Chaetomium, and Trichoderma***، ولقد وجد أن فطر ***Polyporus versicolor*** له القدرة علي تحليل السيليولوز المرتبط باللجنين وهذا الفطر يفرز إنزيم خارجي يفصل اللجنين عن السيليولوز.



شكل٢(١) –٥: الشكل المورفولوجي لبكتيريا *Cytophaga*



شكل٢ (١)–٦: الشكل المورفولوجي لبكتيريا *Clostridium*



شكل٢ (١) –٧: الشكل المورفولوجي لبكتيريا *Streptomyces*

ميكانيكية التحلل   Decomposition mechanism

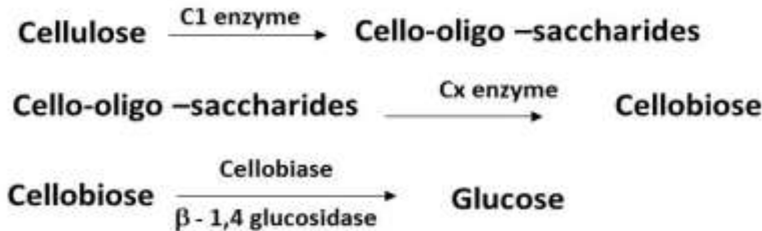
تتم عملية تحلل السيليولوز بواسطة الـ Microorganisms عن طريق إنزيماتها الخارجية و تسمي الـ Cellulases وهذه الإنزيمات هي:

1- C_1 :Endo-β - 1, 4 -glucanase

2- Cx: Exo-β - 1, 4 -glucanase

3- β - glucosidas

ولكى يتحلل السليولوز لابد من قدرة الكائنات الحية الدقيقة علي إفراز هذه الإنزيمات الثلاثة ويتم تحلل السليولوز علي خطوات نوضحها فيما يلي :



حيث: C1; Endo β - 1,4 glucanase   Cx; Exo β - 1,4 glucanase

والجلوكوز الناتج يستخدمه الميكروب كمصدر للكربون والطاقة ويتحلل هوائيا إليCO_2+H_2O أو لا هوائيا إلي أحماض عضوية وكحولات وبعض الغازات.

ومما هو جدير بالذكر أن الحيوانات غير قادرة علي تحليل السيليولوز لأنها لا تفرز الإنزيمات المحللة للسيليولوز لذلك نجد أن البكتريا الموجودة في معدة الحيوانات آكلة العشب هي التي تحلل المواد السيليولوزية الموجودة بالعليقة، ومن أهم أنواع البكتيريا اللاهوائية التي تقوم بهذه العملية في معدة الحيوانات المجترة Ruminants ما يلى :

Ruminococcus flavofaciens, Bacteroides ruminicola, Butyrivibrio fabrisolvens

ويمكن الاستفادة من الناحية التطبيقية من قدرة هذه الكائنات الحية الدقيقة علي تحلل السيليولوز في عملية إنتاج السماد العضوي الصناعي الـ Composting وكذلك في إنتاج المركبات الوسطية اللازمة لإنتاج غاز الميثان. أيضا أمكن الاستفادة من قدرة بعض الفطريات البازيدية علي تحليل السيليولوز في إنتاج ما يعرف بعيش الغراب Mushroom وذلك بتنميتها علي المخلفات الغنية بالسيليولوز.

تحلل الهميسيليولوزات Hemicelluloses decomposition

الهميسيليولوز هو أحد المكونات النباتية الرئيسية التي تضاف إلي التربة ، وهي تلي السيليولوز من حيث كمياتها فى التربة وبذلك فإنها تمثل مصدرا هاماً من مصادر الطاقة والغذاء للكائنات الدقيقة، ولا يجب أن يعطى تسميتها انطباعاً بأنها تشبه السيليولوز ولكن هذه التسمية قديمة تعود لوجود الهميسيليولوز مجاورًا للسيليولوز في جدر النباتات الراقية ولا علاقة لتركيبه بتركيب السيليولوز، أما عن تركيبه فهو عبارة عن سلاسل من مواد كربوهيدراتية معقدة غير متجانسة غير قابلة للذوبان في الماء يدخل في تركيبها سكريات سداسية مثل الجلوكوز والجالاكتوز والمانوز وخماسية مثل الزيلوز والأرابينوز وأحماض يورونية وقد اقترح تسميتها بأكثر السكريات الغالبة فيها مثل الزيلان Xylans أو الجالاكتان Galactans أو المانان Manans .

ولم يدرس تركيب الهميسيليولوزات بالتفصيل إلا لأنواع قليلة منها فقط ، وقد أعطي المزيد من الاهتمام بوجه خاص لمركبات الزيلان لأنها تمثل٧-٣٠٪ من وزن النبات، والتي تتركب من سلاسل من وحدات سكر الزيلوز مع وجود سلاسل جانبية محتوية علي الأرابينوز وحمض الجلوكورونيك وعدد من السكريات الأخرى التي غالبا ما تكون موجودة بنسبة ضئيلة، وتشكل وحدات الزيلوز الهيكل الأساسي للسلسلة المستقيمة في مركبات الزيلان ، فترتبط جزيئات السكر مع بعضها البعض بروابط من النوع $1,4-\ \beta$.

وتحتوى بعض النباتات علي مركبات الجالاكتان الذي يتكون من وحدات من سكر الجلاكتوز بصفة أساسية في التركيب ، كما تحتوى بعض الأنواع علي مركبات المانان التي يدخل في تركيبها سكر المانوز فقط ، علي العكس من ذلك فإن معظم الهميسيليولوزات في بعض الأنسجة الخشبية يكون عبارة عن جلوكومانان يتكون من سكر المانوز والجلوكوز بنسبة ٢:١ ، وكمثال لبعض أنواع الهميسيليولوزات المحتوية علي خليط من السكريات فتوجد مركبات الجلاكتومانان والأرابينوزيلان والأرابينوجلاكتان في بعض الأنسجة النباتية .

الكائنات الحية الدقيقة المحللة للهميسيليولوزات

Hemicelluloses decomposers

هناك كثير من الكائنات الدقيقة الهوائية واللاهوائية يمكنها استخدام الهميسيليولوزات للنمو ولتخليق الخلايا، تتواجد الميكروبات النشطة في تحليل الهميسيليولوزات بكثرة عن الأنواع المحللة للسيليولوز، والكائنات الدقيقة المسئولة عن تحليل الهميسيليولوزات تشتمل علي مجموعة كبيرة من الميكروبات سواء من حيث التقسيم أو الأشكال المورفولوجية أو المجموعات

الفسيولوجية ولا تتميز هذه الكائنات بظاهرة التخصص الدقيق في نوعية المواد التي تحللها بعكس الحال بالنسبة للكثير من محللات السيليولوز، بالإضافة إلي السكريات العديدة Polysaccharides فإن هذه الميكروبات يمكنها استخدام الأحماض العضوية وكثير من السكريات البسيطة، ونظراً للتباين الكبير في التركيب الكيميائي للهميسيليولوزات في مختلف أنواع النباتات ، فإنه يصبح من المتوقع أن تختلف تبعاً لذلك أنواع الميكروبات القائمة علي تحليل هذه المركبات واستخدامها ، كما يمكن أيضا أن يتغير التركيب الميكروبي تبعاً لطبيعة المكونات المرتبطة مع بعضها داخل الأنسجة النباتية.

ويمكن لكثير من الفطريات والبكتيريا والأكتينوبكتيريا أن تعمل علي تحليل الهميسيليولوزات عند وجودها في مزارع نقية بحيث تستخدمها كمصادر وحيدة للكربون والطاقة مثل ***Alternaria, Fusarium, Aspergillus and Penicillium*** ، كما أوضحت الدراسات المتعددة أن هناك أنواعاً من البكتيريا التي تتبع أجناس ***Bacillus, Cytophaga, Erwinia, Pseudomonas, Sporocytophaga and Xanthomonas*** بالإضافة إلي مختلف الأنواع الأخرى يمكنها دون شك استخدام الهميسيليولوزات كمصادر للكربون. وتوجد أنواع من جنس ***Streptomyces*** وأجناس أخرى من الأكتينوبكتيريا لها نفس القدرات الفسيولوجية علي تحليل الهميسيليولوز ويوجد ثلاثة أنواع من الإنزيمات التي يمكن لها أن تقوم بالتحلل وهي:

أ- إنزيمات داخلية وهي التي تعمل علي تكسير الروابط عشوائياً بين الوحدات البنائية للهميسيليولوزات.

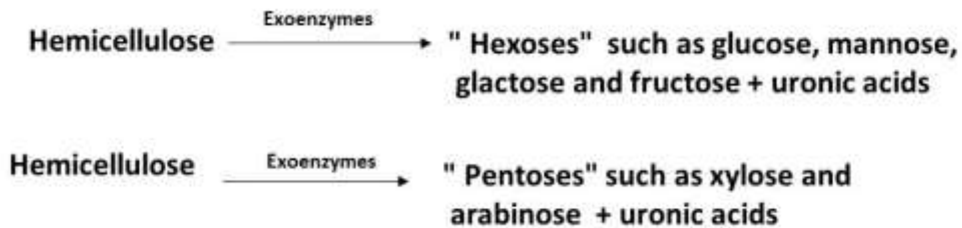
ب- إنزيمات خارجية وهي تعمل علي تكسير إما وحدات من السكر الثنائي أو وحدات من السكر الأحادي من نهاية السلسلة للسكر العديد.

ج- إنزيمات تعرف في مجموعها بإنزيمات الجلوكوسيديز ، وإنزيم الجلوكوسيديز يحلل الأوليجومرات أو السكريات الثنائية الناتجة عن التكسير الإنزيمي للهميسيليولوزات تحليلا مائيا وبذلك تنتج السكريات البسيطة أو حمض اليورونيك وهذه يتم تمثيلها بواسطة الخلية لإنتاج الطاقة.

تم التعرف علي الكثير من إنزيمات الزيلانيز لأنواع الميكروبات غير ذاتية التغذية . وتتوقف نواتج التحلل علي نوع الإنزيم ، حيث تتميز هذه الإنزيمات الداخلية بتكوينها الزيلوبيوز(سكر ثنائي) وسكريات عديدة ، بينما الإنزيمات الخارجية عادة ما تكون الزيلوز الذي يمثله الميكروب داخل الخلية، وبخلاف الزيلوز فإن الكميات الصغيرة من السكريات الأخرى في مركبات الزيلان تنطلق أيضا ويتم تمثيلها. وتوجد إنزيمات المانانيز التي تفرز خارج الخلايا بواسطة الفطريات والبكتيريا ، وهذا النوع من الإنزيمات يمكن أن يكون من الإنزيمات الدائمة

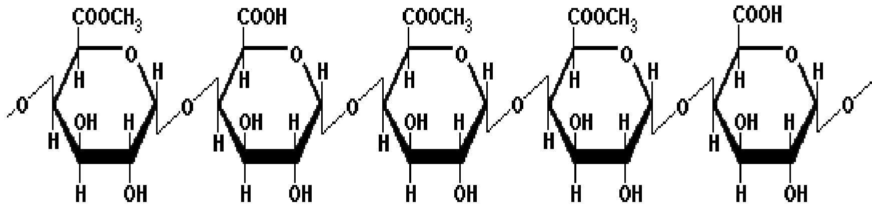
الوجود في الخلية لبعض الميكروبات كما يمكن أن تكون من الإنزيمات المستحثة Inducible في ميكروبات أخرى، من ناحية أخرى فإن هذا الإنزيم ليس متخصصا في تحليل السكريات العديدة المحتوية علي وحدات سكر المانوز فقط بل إنه يقوم أيضا بتحليل الجلاكتومانان والجلوكومانان ، وكل منهما يدخل المانوز بصفة رئيسية في وحداته البنائية ، وعند غياب الجلوكوسيديز فإنه غالباً ما تتراكم السكريات الثنائية والأوليجومرات لأن التحليل الكامل يحتاج إلي وجود إنزيمات تكسر كل من المركبات المتبلمرة والسكريات العديدة. ويمكن أن تحتوي مركبات الجلاكتان علي روابط $\beta - 1,2$ وكذلك $\beta - 1,3$ بين وحدات الجلاكتوز وأن تكسير هذه الروابط يحتاج وجود إنزيمين مختلفين يعرفان بإنزيمات جلاكتانيز ، وينتج عن عمل هذه الإنزيمات تكوين إما جلاكتوز أو جلاكتوبيوز أو جلاكتوتريوز.

وبصفة عامة فإنه يمكن القول بأن تحلل الهميسيليولوزات بواسطة ميكروبات التربة يتطلب إلي وجود مجموعة كبيرة من الإنزيمات لأنه معقد التركيب حيث يبدأ التحلل بتكسير مركبات الهميسيليولوزات إلي وحدات أصغر ثم تتحلل هذه الوحدات إلي سكريات ثنائية وأحماض يورونية وأخيراً تتحول السكريات الثنائية بفعل إنزيمات الجلوكوسيديز إلي سكريات أحادية تستطيع أن تمر إلي داخل الخلية الميكروبية، ويمكن وضع تصور لتحلل الهميسيليولوزات بواسطة الكائنات الحية الدقيقة علي النحو التالي:



تحلل المواد البكتينية Decomposition of pectic substances

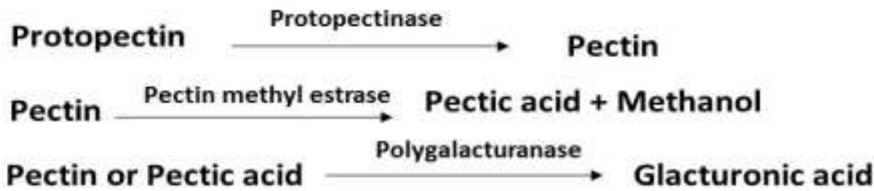
يوجد البكتين في الصفيحة الوسطية بين الخلايا حيث يعمل كمادة رابطة بين الخلايا النباتية، تتكون المواد البكتينية من ثلاث مركبات هي البكتين والبروتوبكتين وحمض البكتيك وجميعها وحدات من حمض الجلاكتورونيك مرتبطة مع بعضها بروابط من النوع glycosidic linkage β – وبعض هذه الوحدات يكون متحد به مجموعة ميثيل برابطة استر مع مجموعة الكربوكسيل في الحمض كما يوضح شكل [٢ (١)–٨].



شكل٢ (١) –٨: التركيب الكيميائي للبكتين

ميكانيكية تحلل البكتين Mechanism of pectin decomposition

يمكن تصور خطوات تحلل المواد البكتينية والإنزيمات التي تفرزها الكائنات الحية الدقيقة لتحليلها كما يلي :



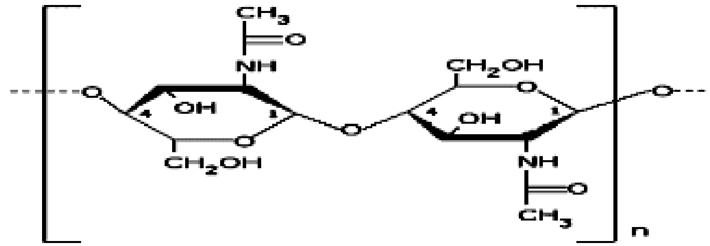
الميكروبات المحللة للبكتين Pectin proteolytic

من أهم الكائنات الحية الدقيقة التى تقوم بتحليل المواد البكتينية بكتيريا *Erwinia caratovora* وهي بكتيريا ذات شكل عصوي قصير و السلالات التي تنتمي إلي جنس *Bacillus* مثل *B. comessii* وهذه البكتيريا هوائية ، كذلك يوجد بكتيريا لاهوائية قادرة علي تحليل المواد البكتينية تابعة للجنس *Clostridium* مثل *Cl. felsineum* , *Cl. pectinovorum*. ويتم الاستفادة عمليا من الناحية التطبيقية من مقدرة بعض الكائنات الحية الدقيقة علي تحليل المواد البكتينية في تعطين نباتات الألياف كالجوت والتيل والكتان حيث تعمل هذه الكائنات الحية الدقيقة علي تحليل المواد البكتينية اللاحمة أو الرابطة للألياف فيسهل تفككها.

تحليل الكيتين (الشيتين) Chitin decomposition

التركيب الكيميائي للكيتين Chemical composition of chitin

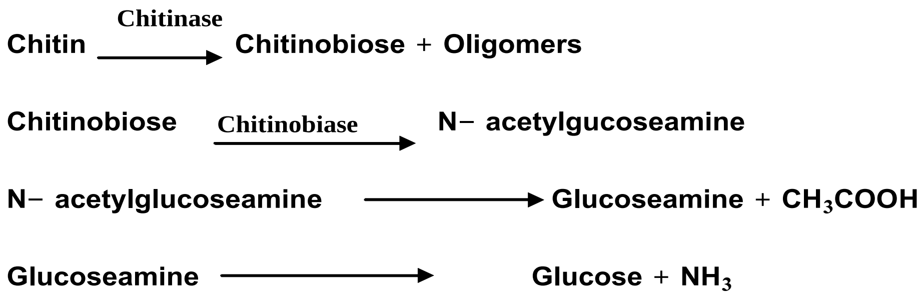
يتركب الكيتين من سلاسل من وحدات من N– acetylglucose amine مرتبطة مع بعضها بروابط من النوع β– 1,4 كما يوضح شكل [٢(١)–٩]، ويعتبر الكيتين من أهم السكريات الأمينية المعقدة وجودا في الطبيعة ويتميز الكيتين بسرعة تحلله ويرجع ذلك إلي أن C:N ratio فيه ضيقة (٦.٩٪ نيتروجين).



شكل٢(١) -٩: التركيب الكيميائي للكيتين

جزئ الكيتين كبير في الحجم بحيث لا يمكن للميكروبات إمتصاصه، لذلك لابد أن يتحلل أولا إلي مركبات بسيطة من وحدات السكر الأميني، وبعد ذلك يحدث تحلل للسكر الأميني إلي حمض خليك وجلوكوز أمين، الجلوكوز أمين الناتج يحدث له عملية **Deamination** ويتكون الجلوكوز والأمونيا.

ويمكن توضيح خطوات التحلل كما يلي :



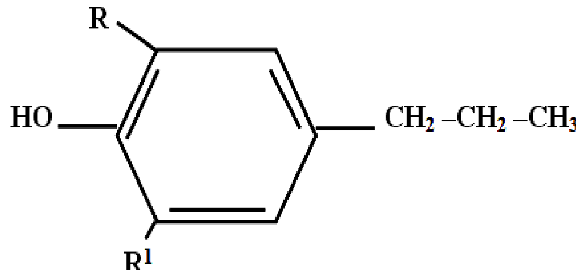
تعتبر الأكتينوبكتريا من الكائنات الحية الدقيقة التي لها القدرة علي تحليل الكيتين ومن أهم الأجناس المحللة ***Streptomyces , Micromonospora*** . أما عن الفطريات المحللة للكيتين فهي ***Trichoderma Fusarium , Aspergillus*** وكذلك يوجد بعض الأنواع البكتيريـــة تستطيع أن تحلل الكيتين والتى تتبـــع أجناس :

Bacillus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium and Cytophaga.

تحليل اللجنين Lignin decomposition

يوجد اللجنين في الجدار الخلوي لكثير من النباتات ونسبة اللجنين تختلف كثيرا من نبات إلي أخر وتتوقف علي عمر النبات , وتتراوح هذه النسبة بين ٥ - ٣٠٪ من تركيب النبات علي أساس الوزن الجاف ، كما تحتوي جدر خلايا بعض الفطريات علي مواد شبيهة باللجنين مثل أجناس ***Aspergillus*, *Humicola* and *Gliocladium*** وعادة يوجد اللجنين في النباتات

مرتبطا بالسليولوز مكونا مركبات معقدة من اللجنوسيليولوز Lignocelluloses وتزداد نسبة اللجنين في جدر الخلايا مع تقدمها في العمر حيث تترسب فيها باستمرار مع زيادة سمك الجدر. ومن الناحية الكيماوية فإن اللجنين لا يعتبر مادة متجانسة التركيب الكيماوي ولكن يمكن اعتباره مجموعة من المركبات تختلف في تركيبها كثيرا من نبات لآخر. وعموما فإن مركبات اللجنين غير قابلة للذوبان في الماء الساخن وتقاوم التحلل بالأحماض المعدنية القوية ولا يذوب في المذيبات العضوية المتعادلة ولكنه يذوب في القلويات، وقد أظهرت الدراسات الفيزيائية أنه يحتوي علي نواة من مركبات عطرية أساسا من مشتقات Phenyl propane كما في شكل [٢(١) -١٠]وتحتوي المركبات الحلقية أو العطرية علي عدد كبير من مجاميع الميثوكسيل (CH_3O Methoxyl group). ونسبة هذه المجاميع في تركيب اللجنين يختلف من نبات إلي أخر فهي تصل في المتوسط إلي ٢١ ٪ من اللجنين في الأشجار متساقطة الأوراق ومن١٥- ١٦ ٪ في النجيليات، ويمكن القول أن نسبتها لا تقل عن١٤ ٪ من تركيب اللجنين، والوحدة الأساسية الداخلة في بناء النواة العطرية للجنين يمكن توضيحها كما يلي:



شكل٢(١) -١٠: الشكل البنائى للجنين

هذه الوحدة الأساسية توجد في ثلاث صور هي:

١- الصورة الأولي وفيها R, R^1 عبارة عن H.

٢- الصورة الثانية وفيها R هي عبارة عن H أما R^1 عبارة عن CH_3O.

٣- الصورة الثالثة وفيها R, R^1 عبارة عن CH_3O.

ونسب هذه الصور الثلاثة تختلف في أنواع النباتات المختلفة، مما يؤدي إلي اختلاف نسب مجاميع الميثوكسيل في اللجنين من نبات لأخر.

والتركيب الكيميائى للجنين معقد وهذا ينعكس على دراسة طريقة التحلل الميكروبي له ونواتج التحلل. لذلك فإن مثل هذه الدراسات عادة ما يستخدم فيها بعض المركبات الداخلة في تركيب اللجنين حتى يمكن تتبع نواتج التحلل ووضع نظريات تحدد خطوات هذا التحلل، والمجموعة الإنزيمية التي تنشط تحليل اللجنين يطلق عليها عادة إنزيم لجنينيز Ligninase.

ولقد أوضحت الدراسات التي يستخدم فيها بعض المركبات الداخلة في تركيب اللجنين مثل α-conidendrin أن بعض السلالات الميكروبية تستطيع استخدامه كمصدر وحيد للكربون مثل *Flavobacterium* sp. ولقد اتضح أن التحلل يعطي **Vanillic acid** الذي يتحول بالتالي إلي

Protocatechuic acid كما لوحظ أن كثيرا من فطريات التربة قادرة علي أكسدة **Vanillin, Vanillic acid, Syringic acid, Syringaldehyde, Ferulic acid and Hydroxybenzoic acid** وهذه المركبات جميعها تدخل في تركيب اللجنين ، وتؤدي الأكسدة لهذه المركبات في العادة إلي كسر حلقات البنزين التي تكون أساس التركيب، حيث أن جميع هذه المركبات تحتوي علي حلقات بنزين ، وأغلبها يحتوي علي مجموعات الميثوكسيل $-O\ CH_3$ أو الهيدروكسيل **OH-** أو الكربوكسيل **COOH-** أو الألدهيد **CHO-**.

وعادة فإنه عند التحلل الميكروبي تختفي مجاميع الميثوكسيل والسلاسل الجانبية علي النواة العطرية أولا قبل تكسير النواة، وباختصار يمكن القول أن جزيء اللجنين يحدث له تحلل إلي مركبات عطرية بسيطة أولا **Depolymerization** بواسطة إنزيمات خارجية تفرزها الميكروبات في الوسط ثم بعد ذلك تزال مجاميع الميثوكسيل من هذه الجزيئات وتبقي مشتقات البنزين التي بعد ذلك يحدث لها تكسير للحلقات العطرية ، وإن كان هناك بعض الأراء التي تشير إلي أن إزالة مجاميع الميثوكسيل قد تتم قبل تحلل الجزيء إلي مركباته العطرية.

يعتبر اللجنين من أبطأ المواد الكربونية في التحلل في الأراضي ، لذلك فإن نسبته ترتفع باستمرار مع تقدم عملية تحلل المواد العضوية المضافة للتربة وذلك نتيجة للسرعة التي يتم بها تحلل المواد الكربونية الأخرى مقارنة باللجنين، وتعتبر سرعة تحلل السيليولوز علي سبيل المثال ثلاثة أضعاف سرعة تحلل اللجنين ، وعلي سبيل المثال فإنه لو أضيف إلي التربة مادة عضوية نباتية تحتوي علي ١٥ ٪ لجنين فإنه بعد ٦ شهور من بدء التحلل ترتفع نسبة اللجنين في المادة المتحللة إلي ٣٠ ٪ وبذلك ترتفع نسبة المواد الفينولية العطرية في المواد العضوية وهذه تتحد مع مركبات نيتروجين ومركبات أخري لتكوين الدبال **Humus** ولذلك فالدبال غني بالمركبات العطرية.

أما من ناحية الميكروبات التي تحلل اللجنين في التربة فقد لوحظ أن عدد الميكروبات المحللة له في التربة قليلة مثل أجناس ***Pseudomonas* and *Flavobacterium*** كما تستطيع بعض أنواع من **Actinobacteria** تحليله أيضاً. ومن أهم ميكروبات التربة ذات المقدرة علي تحليل اللجنين هي الفطريات وخصوصاً بعض الفطريات التابعة للـ **Basidiomycetes and Ascomycetes** التي تلعب الدور الأساسي في تحليل الأنسجة

الخشبية الشديدة الصلابة حيث يستطيع ميسليوم هذه الفطريات اختراق أنسجة الخشب بمساعدة الإنزيمات الخارجية ، ومن أمثلة الفطريات المحللة للجنين أو المركبات التي يدخل في تركيبها اللجنين الفطريات الأتية:

Agaricus campestris , Armilaria mellea, Phanerochaete chrysosporium and Polyporus versicolor.

أكسدة الهيدروكربونات الأليفاتية Oxidation of aliphatic hydrocarbons

تستجيب ميكروبات التربة لإضافة البارافينات والبترول ومنتجاته وكذا المركبات الهيدروكربونية الأخرى، فتقوم المجموعات الميكروبية الناشئة عن الإضافة باستهلاك هذه المواد والعمل علي اختفائها من التربة، هذا النوع من التحولات يعتبر ذو أهمية كبيرة بالنسبة لدورة الكربون في الأرض ، لأن الشموع ومختلف المركبات الأخرى للأنسجة النباتية تحتوى علي الهيدروكربونات الأليفاتية ، وقد وجد أن الهيدروكربون أو المركبات المشابهة له في التركيب تمثل ٠.٠٠٢٪ تقريبا من الأنسجة النباتية، يوجد مصدر أخر لهذه المركبات في التربة وهو ميكروبات التربة نفسها التي يمكنها تخليق أنواع مختلفة من الهيدروكربونات أو الجزيئات المشابهة لها ، فيوجد مثلا بعض أنواع من البكتيريا والطحالب وجراثيم الفطريات تحتوى خلاياها إما علي هيدروكربونات أليفاتية أو مواد مشابهة في تركيبها البنائي للهيدروكربونات.

تقوم الميكروبات المؤكسدة للمواد الهيدروكربونية أيضا بتمثيل الزيوت التي تستخدم كمواد حاملة لمبيدات الآفات أثناء الرش والتي تصل إلي التربة حتي عند رش الأجزاء الخضرية للنبات، بالإضافة إلي ذلك فإن طبقة التربة الواقعة أسفل الطرق الأسفلتية تحتوى علي أعداد كبيرة من البكتريا القادرة علي استخدام الأسفلت، وتدل قصر مدة بقاء الأنواع العديدة من الهيدروكربونات في التربة إلي وجود مجموعات ميكروبية تقوم باستخدامها بشراهة ، وقد وجد عند إضافة البارافينات كمادة غذائية للنمو أن أعداد الميكروبات قد تصل إلي أكثر من ١٠° في الجرام ، فالمركبات التي تستخدمها الميكروبات تشتمل علي البارافينات والكيروسين والجازولين وزيوت التشحيم المعدنية والإسفلت والقطران والمطاط الطبيعي والصناعي ، كما يتحلل أيضا الميثان والإيثان والبروبان والبيوتان والبنتان والهكسان وكثير من الهيدروكربونات الأليفاتية ذات التركيب من نوع C_nH_{2n+2} والتي منها الأنواع ذات ذرة الكربون الواحدة والأنواع ذات الأربع ذرات من الكربون حيث توجد في صورة غازية تحت درجة حرارة الغرفة الأقل من ٣٠° م ، وكل هذه المركبات قابلة للتحلل الحيوي، والمركبات الصلبة ذات نفس النوع من التركيب كالجزيئات المحتوية علي ٢٠ ذرة كربون أو أكثر تقوم الميكروبات بتمثيلها هي الأخرى وكثيراً ما يحدث تسرب للغاز الطبيعي من الأنابيب تحت سطح الأرض ، وعلي الرغم من أن هذا يمثل أحد مشاكل

تلوث البيئة فإن هناك توسعا في استخدام هذا الغاز في المدن وضواحيها ، ويؤدي تسرب الغاز في بعض الأحيان إلي قتل الأشجار في المدن بمعدل أكبر من موتها بالعوامل الطبيعية الأخرى مجتمعة، ويحتوى الغاز الطبيعي عادة علي نسبة عالية من الميثان وكميات قليلة من الإيثان بالإضافة إلي أثار من المركبات الطيارة الأخرى.

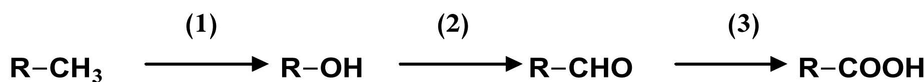
وتتكاثر البكتيريا القادرة علي أكسدة الهيدروكربونات الطيارة في المنطقة المحيطة بالغاز المتسرب حيث تقوم باستهلاك O_2 مما يعمل علي إيجاد مواقع فقيرة في الأكسجين ثم تقوم البكتيريا بتخليق مركبات يحتمل أن يكون لبعضها تأثير سام علي النباتات، ولذلك فإن تأثر النباتات المجاورة ليس نتيجة وجود الغاز الطبيعي في حد ذاته بل يكون بسبب نقص O_2 وزيادة تركيز CO_2 وربما أيضا يكون راجعاً إلي وجود المواد السامة التي أنتجتها الميكروبات.

وتوجد أنواع كثيرة من البكتيريا يمكنها تمثيل الهيدروكربونات الأليفاتية ذات السلاسل الطويلة أو القصيرة، ولكن هناك نوعاً أو أكثر من الهيدروكربونات الغازية وخصوصا الميثان لا يمكن لهذه الكائنات الدقيقة أن تؤكسدها ، وقد وجد مثلا أن أنواعاً كثيرة من البكتريا التي عزلت من التربة المضاف إليها بترول يمكنها استخدام الهيدروكربونات الغازية من إيثان (C_2H_6) وبروبان (C_3H_8) وبيوتان (C_4H_{10}) ولكنها لا تستخدم الميثان. ويمكن للميكروبات من أجناس ***Mycobacterium, Nocardia, Streptomyces, Pseudomonas*** **and** ***Flavobacterium*** وكذلك البكتيريا الكروية وعديد من الفطريات الخيطية أن تقوم بتمثيل الإيثان.

وتتميز أنواع الميكوبكتيريا علي وجه التحديد بأنها أكبر الميكروبات استخداماً لمثل هذه المركبات البسيطة، وبالنسبة للهيدروكربونات ذات الأوزان الجزيئية العالية فإنها تستهلك بواسطة أنواع من الكائنات الدقيقة تتضمن أجناس ***Mycobacterium, Nocardia, Streptomyces, Corynebacterium, Acinetobacter*** **and** ***Pseudomonas Bacillus*** كما يقوم بذلك أيضا جنسان من الخمائر هما ***Rhodotorula*** **and** ***Candida*** بالإضافة إلي عديد من الفطريات.

ويمكن لكثير من الكائنات الدقيقة أن تقوم بتمثيل الهيدروكربونات الأليفاتية التي لا يمكنها استخدامها كمصدر كربوني للنمو وهذا يمثل ظاهرة تعرف باسم التمثيل الغذائي المشترك **Co-metabolism** وهي قيام الكائن الدقيق بتمثيل أحد المركبات التي لا يمكن للخلية استخدامها كمصدر للطاقة أو كمصدر أساسي من العناصر الغذائية ، ولما كانت عملية التمثيل الغذائي المشترك للهيدروكربونات عادة ما تتضمن عملية أكسدة فإنه أحيانا ما يطلق عليها اسم الأكسدة المشتركة **Co-oxidation**، ولإثبات حدوث ظاهرة التمثيل الغذائي المشترك لهذه

الجزيئات فإنه عادة ما يتم إمداد الميكروبات بمصدر كربوني مناسب للنمو مع إضافة المادة الثانية وهذه تتأكسد في نفس الوقت مع المادة الأولى ، تشتمل ميكانيكية التحلل الميكروبي في أكسدة الهيدروكربون في خطوات متتالية تؤدي إلي إنتاج المركبات المقابلة منه من كحول وألدهيد وحمض دهني.



$$R{-}CH_3 \xrightarrow{(1)} R{-}OH \xrightarrow{(2)} R{-}CHO \xrightarrow{(3)} R{-}COOH$$

(1) Monooxygenase, (2) Alcohol dehydrogenase, (3) Aldehyde dehydrogenase

خلال خطوات التحلل تتأكسد أولا ذرة الكربون الموجودة في طرف المركب، وفي حالة الأكسدة من طرفي المركب تتم بنفس الطريقة ويتحول المركب إلى حمض دهني ثنائي الكربوكسيل في طرفيه ويتحلل الحمض الدهنى عن طريق سلسلة من التفاعلات حسب نوع الميكروب المحلل ومن هذه الطرق :

- الأكسدة من النوع ألفا α−oxidation وفيها ينزع فيها ذرة الكربون التي تلي مجموعة الكربوكسيل. - الأكسدة من النوع بيتا β−oxidation وفيها ينتزع فيها ذرتي كربون من نهاية السلسلة ليتكون حمض الخليك.

- الأكسدة من النوع أوميجا Omega oxidation، في هذا النوع من الأكسدة للأحماض الدهنية يحدث أكسدة للذرة الأخيرة من الحمض الدهني أي الذرة أوميجا.

أولاً: الأكسدة ألفا α−oxidation

وفيها تتم أكسدة ذرة الكربون التي في وضع ألفا والتي تلي مجموعة الكربوكسيل وتتم الأكسدة على خطوات حيث تتحول مجموعة الكربون ألفا إلى CHOH ويتكون حمض دهني يحتوى على مجموعة هيدروكسى في الوضع ألفا ثم تتأكسد مجموعة الهيدروكسى إلى مجموعة كربوكسيل مع نزع مجموعة الكربوكسيل الطرفية وبذلك ينتج حمض دهني اقل من الحمض الأصلي بذرة كربون واحدة وتتكرر هذه العملية حتى يتحلل المركب.



$$R{-}CH_2{-}COOH \longrightarrow R{-}CHOH{-}COOH$$



$$R{-}CHOH{-}COOH \longrightarrow R{-}CH_2OH$$



$$R{-}CH_2OH \longrightarrow R{-}COOH + CO_2$$

ثانياً: الأكسدة بيتا β−oxidation

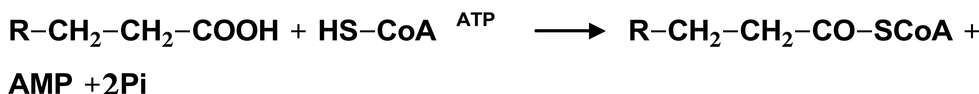
وهى من أكثر طرق أكسدة المركبات الأليفاتية شيوعا حيث تؤدى أكسدة ذرة الكربون فى الوضع بيتا إلى إزالة مستمرة لمجموعة أسيتات ويتكون حمض خليك أي أن السلسلة تفقد ذرتي كربون في كل دورة أكسدة، وتبدأ الأكسدة بوجود إنزيم Monooxgenase وإنزيم Alcohol

dehydrogenase وإنزيم Aldehyde dehydrogenase فتتحول سلسلة الألكان إلى حمض دهني الذي يتم تحويله إلى ثيوإستر مع المرافق الإنزيمي CoA ثم أكسدة لمجموعة كربون بيتا ثم انفصال مجموعة أسيتيل من حمض الدهنى الذي ينقص عن الحمض الأصلي بذرتي كربون وتستمر هذه العملية حتى يتحلل المركب وتوضح المعادلات التالية ذلك:

أ- في البداية يحدث تنشيط للحمض الدهني وتحويله إلي ثيوإستر مرتبط بالمرافق الإنزيمي Acetyl coenzyme (CoA):



هيدروكربون حمض دهنى



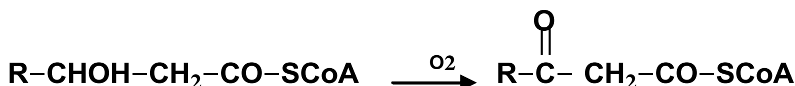
ب- يتحول الحمض الدهنى المرتبط بالـ CoA إلي حمض دهني غير مشبع وذلك بنزع ذرتين هيدروجين.



ج- حدوث تأدرت للحمض الدهنى غير المشبع ويتحول إلي حمض دهني به مجموعة هيدروكسيل في الوضع بيتا.



د- يحدث أكسدة لمجموعة الهيدروكسيل إلي مجموعة كيتون ويتكون حمض كيتوني acid α –keto.



هـ- يحدث تفاعل بين الحمض الكيتوني والمرافق الإنزيمى CoA ويتكون حمض يقل في عدد ذرات الكربون بمقدار ذرتين.



وبهذا يتم إزالة ذرتين كربون من سلسلة الحمض الدهني في كل دورة أكسدة ثم يتحلل حمض الخليك داخل الخلية لينتج الكربون والطاقة اللازمين لعمليات التخليق الحيوي ، والحمض الدهني المتبقي والذي نقصت منه ذرتي كربون تتم مهاجمته عدة مرات في خطوات متتالية لإنتاج

وحدات من حمض الخليك وبذلك يتحلل المركب إلي وحدات أصغر يمكن للخلية استخدامها لإنتاج الطاقة ولعمليات التخليق الحيوي داخل الخلية الميكروبية.

ثالثاً: الأكسدة أوميجا Omega oxidation

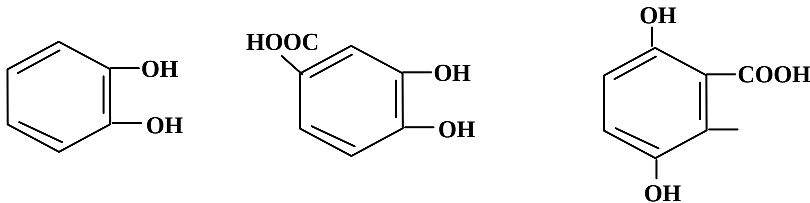
في هذا النوع من الأكسدة للأحماض الدهنية يحدث أكسدة للذرة الأخيرة من الحمض الدهني أي الذرة أوميجا وبذلك يتكون حمض دهني ثنائي الكربوكسيل , بعد ذلك يحدث أكسدة للحمض الدهني من الطرفين إما بالطريقة ألفا أو بيتا.

تحلل المركبات العطرية Degradation of aromatic compounds

علـي الرغم مـن أن المركبـات العطريـة نـادرا مـا توجد بكميات كبيرة ضمن المواد العضوية التـي تصـل إلـي التربـة ، فإنهـا تمثـل فـي الواقـع مجموعـة هامـة مـن المركبـات التـي تهاجمهـا الميكروبات فالوحدات البنائية العطرية هي أساس التركيب البنائي للجنين المتحلل وكذا لمركبات الـدبال، فالأنسـجة النباتيـة تحتوى علـي مركبـات ذات حلقـة بنـزين واحـدة كمـا تحتـوي أيضـاً علي جزيئات أكثر تعقيدًا مثل مركبات الفلافونويد والألكالويد والزيـوت العطريـة والتانينـات كمـا أن الفطريـات والأكتينوبكتريـا كثيـرا مـا تقـوم بإنتـاج مركبـات الميلانـين وهـي عبـارة عن بـوليمرات مـن الوحـدات العطريـة، ويوجـد العديـد مـن الأحمـاض الأمينيـة العطريـة التـى تـدخل فـى تركيـب المـواد البروتينيـة وكثيـر مـن المركبـات الصـناعية المسـتخدمة فـي مقاومـة الأفـات Pest control وهـى عبـارة عـن هيـدروكربونات عطريـة متحـورة، كـل هـذه المـواد المتنوعـة تعمـل علـي إمـداد مجمـوع الكائنات الدقيقة بمجموعة كبيرة من المواد التي تقوم باستخدامها وتحليلهـا، عـلاوة علـي ذلـك فـإن كثيـرًا مـن المركبـات العطريـة Aromatic compounds لـه أثـر سـام علـي النباتـات الخضـراء ، وفـي الواقع فإنه تحت بعض الظروف الخاصة التي تؤدي إلي تـأخير نشاط التمثيل الغذائي تحت الظـروف الهوائيـة ، فـإن هـذه المركبـات تتـراكم فـي بعـض مواقـع التربـة بحيـث تصـل إلـي تركيـزات تسـبب أضـرارا للنباتـات الراقيـة، وقـد تحتـوى التربـة علـي هـذه المركبـات بتركيـزات تصـل إلـي ٢-٨ ميكروجرام / جرام تربة، وعادة ما تقدر كمية ومـدي تحلـل هـذه المركبـات عـن طريـق قيـاس CO_2 المنطلق أو O_2 المستهلك أو عن طريق تقدير مدي اختفـاء المـادة المختبـرة ، وفـي هـذه الحالـة الأخيـرة كثيـرا مـا تسـتخدم طـرق التحليـل الكرومـاتوجرافي للغـاز أو الطـرق الكروماتوجرافيـة الأخـرى لهذا الغرض.

يوجد أنواع كثيرة من ميكروبات التربة تقوم بتكسير الهيدروكربونات العطريـة ومشتقاتها، كمـا أن هنـاك كائنـات دقيقـة معينـة تحلـل بعـض المركبـات مثـل الفينـول والنفتـالين والأنثراسـين المحتوية علي حلقة أو اثنتين أو ثلاث حلقات من البنـزين علـي التـوالي , ويبـدو أن البكتيريـا هـي

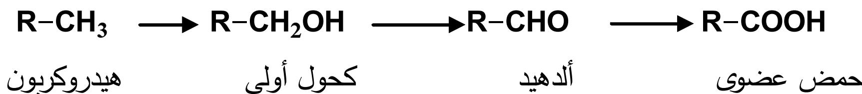
أكثـر المجموعـات الميكروبيــة قـدرة علــي معدنـــة مثــل هــذه المركبــات كــالأنواع التابعــة ***Pseudomonas, Mycobacterium, Acinetobacter, Arthrobacter*** **and *Bacillus*** ولكن جنس ***Nocardia*** كثيـرا مـا يكـون لـه الـدور البـارز ، وقـد تشـارك الفطريـات والأكتينوبكتريا في تحليل الهيدروكربونات العطرية، فالكائنـات الدقيقـة الخيطيـة يمكن أن يكـون لهـا دور هام في تحليل بعض أنواع المركبات العطرية التـي تـدخل فـي تركيب الـدبال. وتنتشر البكتيريـا المحللة للهيدروكربونات العطرية هوائيا انتشارا واسعا، فتحتوي جميـع أنـواع الأراضـي تقريبـا علـي كائنـات دقيقـة تنمـو علـي هذه المركبات ، فأعداد البكتريـا ذات القدرة علـي اسـتخدام المركبـات الهيدروكربونية مثل البنزين والتولـوين والفانيلين والفينـاترين تتراوح بين ١٠^٢^ - ١٠^٦^ في الجرام ويتوقف ذلك علي موقـع التربـة ونـوع المـادة الكيميائيـة، وبـالرغم من اختلاف المراحل الأولـى من خطوات التحلـل فـإن التفـاعلات تسير فـي اتجـاه تكـوين القليـل مـن النـواتج الوسـطية التـي يـتم تمثيلهـا ، ومـن هـذه النـواتج الوسـطية الشـائع وجودهـا هـي الكـاتيكول وحمـض البروتوكاتيكويـك وحمـض الجنتسيك كمـا يوضـح شكل [٢ (١)- ١١] ، وكـل مـن هـذه المركبـات الثلاثـة تتميـز جزيئاتها بوجود مجموعتين من الهيدروكسيل، وغالباً ما تتضمن المرحلـة الأولـى من مراحل تمثيل المركبـات العطريــة إحـداث تحـويرات أو إزالــة المجموعـات المتصـلة علـي حلقـة البنـزين وإحـلال مجموعـات مـن الهيدروكسيل محلهـا، علـي ضـوء وجـود الكثيـر مـن المركبـات التـي تلـوث البيئـة والمركبات العطرية الطبيعية فإن هناك عدة نقاط أساسية هامـة تنطبق علـي هذه المرحلـة الأولـى من مراحل التحلل هي:



Catechol **Protocatechuic acid** **Gentisic acid**

شكل٢(١) -١١: التركيب الكيميائى لبعض المركبات العطرية

١- تتحول مجموعات الميثيل إلي مجموعات كربوكسيل قبل كسر حلقة البنزين وهو تفاعل يستمر علي خطوات كمايلى:



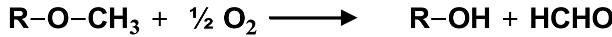
$$R{-}CH_3 \longrightarrow R{-}CH_2OH \longrightarrow R{-}CHO \longrightarrow R{-}COOH$$

هيدروكربون كحول أولى ألدهيد حمض عضوى

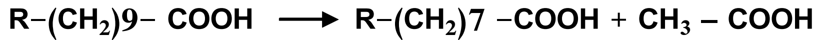
وأحياناً لا تتم إزالة مجموعة الميثيل قبل فتح الحلقة.

٢- كثيرًا ما يتم إزالة مجموعة الكربوكسيل قبل كسر الحلقة ولكن لا يشترط حدوث ذلك دائماً.

٣- تحل مجموعة الهيدروكسيل محل مجموعة الميثوكسيل لتكون الفورمالدهيد.


$$R-O-CH_3 + \frac{1}{2} O_2 \longrightarrow R-OH + HCHO$$

٤- عادة ما يقتصر طول السلاسل الأليفاتية الطويلة وينتج عنها مركبات ينقصها ذرة واحدة أو ذرتين من الكربون، وهذا يتم في العادة علي خطوات بواسطة الأكسدة من نوع بيتا كما سبق توضيحه من قبل.


$$R-(CH_2)9- COOH \longrightarrow R-(CH_2)7 -COOH + CH_3 - COOH$$

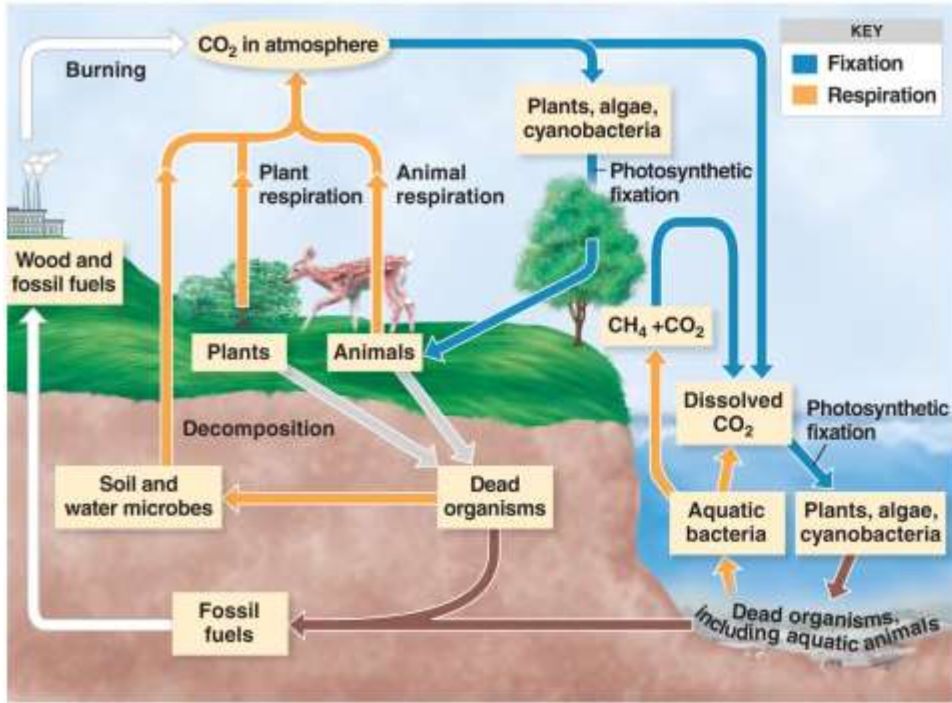
٥- الكلورينات الموجودة في مبيدات الحشائش يحل محلها مجموعات من الهيدروكسيل أو قد تبقى علي الحلقة بعد فتحها ثم تتم إزالتها بعد ذلك.

٦- مجموعات النيترو (NO_2-) التي تتميز بوجودها في بعض مبيدات الأفات أو المخلفات الصناعية يمكن أن يحل محلها مجموعات الهيدروكسيل ، ثم تظهر بعد ذلك في صورة نيتريت ، كما يمكن أن يختزل مجموعات النيترو المتصلة بحلقة البنزين إلي مجموعة أمين (NH_2-).

لكي يحصل الميكروب النشط علي الطاقة والكربون من هذه التحولات فيجب أن يقوم بكسر الحلقة وتحويل نواتج التكسير إلي مركبات تدخل في عمليات التمثيل الغذائي الخاصة بإنتاج الطاقة والتخليق الحيوي ، ويلزم دائماً لفتح حلقة البنزين إضافة الأكسجين إليها والذي تحصل عليه الميكروبات من الأكسجين الموجود فى الوسط.

ويمكن لكثير من الكائنات الدقيقة أن تقوم بعملية التمثيل الغذائي المشترك عند إمدادها بالمركبات العطرية ولكن لا يمكنها أن تنمو بقوة عن طريق تحليل هذه المركبات حيث أن عملية التحلل لا تتم إلي الدرجة الكافية لإنتاج الكربون والطاقة اللازمين للنمو، ويقوم الكثير من الميكروبات وخصوصا الفطريات بإضافة مجموعة الهيدروكسيل دون أن يكون لها القدرة علي فتح حلقة البنزين ، كما يمكن أيضا عن طريق التمثيل الغذائي المشترك أن تقوم الميكروبات بفتح الحلقة وكسر الروابط الأثيرية وإزالة مجموعات النيترو، ومثل هذه التحولات تعتبر ذات أهمية خاصة في تحليل مبيدات الآفات والجزيئات السامة الناشئة عن عملية التمثيل الغذائي المشترك والتي تظهر في التربة ويستمر وجودها لعدة سنوات قد تتجاوز في بعض الأحيان عشر سنوات، وتمثل المركبات الكلورونية والألكالينات ثنائية الفينايل أهمية كبيرة حيث أن المجموعة الأولى تتضمن مركبات Polychlorinated Biphenyl (PCB) الشائعة الاستعمال في الصناعة بينما تشتمل المجموعة الثانية علي مركب Diphenyl-Dichloro-Trichloroethane (DDT) والمبيدات المشابهة له وتقاوم الجزيئات الكلورينية التحلل فتبقى في التربة لفترات طويلة ، بينما تقوم الكائنات الدقيقة بتمثيل كل من المركبات الكلورينية ثنائية الفينايل والـ DDT إلي حد ما، وباستثناء الكلورينات فإن أياً من المجموعتين الكيميائيتين يتم تحليلهما بسرعة بينما

تهاجم الميكروبات نظائرها الكلورينية ببطء وبصفة أساسية عن طريق عملية التمثيل الغذائي المشترك.



شكل٢ (١) -١٢: دورة الكربون فى الطبيعة

(الباب الثانى- الفصل الثانى)

دورة النيتروجين Nitrogen cycle

على الرغم من توفر النيتروجين الجزيئي N_2 في الطبيعة حيث يمثل حوالي ٨٠٪ بالحجم من هواء الغلاف الجوي، إلا أنه غاز خامل كيميائيا وغير مناسب كمصدر نيتروجيني لمعظم صور الحياة على سطح الأرض، وكل النباتات والحيوانات وعدد كبير من الأحياء الدقيقة تعتمد في احتياجاتها من النيتروجين علي نيتروجين مرتبط أو نيتروجين سبق تثبيته لذلك نجد أن دورة النيتروجين تعتبر هامة جدا لكل الأحياء علي سطح الأرض، وتلعب الكائنات الحية الدقيقة دورًا بالغ الأهمية في المحافظة علي مستوي الاتزان لهذا العنصر الهام في الطبيعة.

تحلل المواد العضوية الأزوتية

Decomposition of organic nitrogen compounds

يوجد النيتروجين في المواد العضوية الأزوتية في صورة معقدة لا يستطيع النبات الاستفادة منها ما لم تتعرض لفعل الكائنات الحية الدقيقة التي تحللها إلي الصورة المعدنية الذائبة وهي الأمونيا والنترات وتسمي عملية تحلل المواد العضوية الأزوتية إلي الصورة المعدنية بعملية المعدنة Mineralization وهي تتم علي مرحلتين أساسيتين هما النشدرة والتأزت.

النشدرة Ammonification

في هذه العملية تقوم الكائنات الحية الدقيقة الهتيروتروفية بتحليل المواد العضوية الأزوتية مثل البروتينات والأحماض النووية منتجة الأمونيا كناتج أساسي لتحلل البروتينات كما يتضح من شكل [٢ (٢) -١]، أما الأحماض النووية فإنها تتحلل إلي سكريات خماسية وقواعد نيتروجينية والتي تتحلل فيما بعد ويتكون حمض جليوكسيليك ويوريا ، تتحلل اليوريا المتكونة بفعل إنزيم اليوريز والذي تفرزه بكتيريا *Sarcina urea, Bacillus pasteurii* إلي أمونيا وثاني أكسيد كربون، وفيما يلي المعادلات التي توضح خطوات عملية النشدرة للبروتين وتحلل الأحماض النووية بواسطة الكائنات الحية الدقيقة.





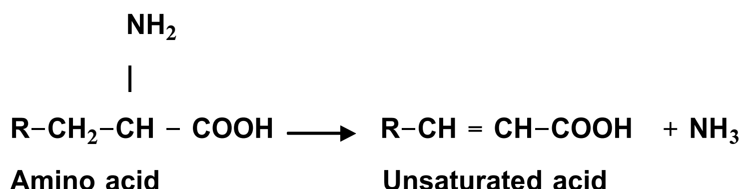


شكل ٢(٢)-١: خطوات عملية النشدرة

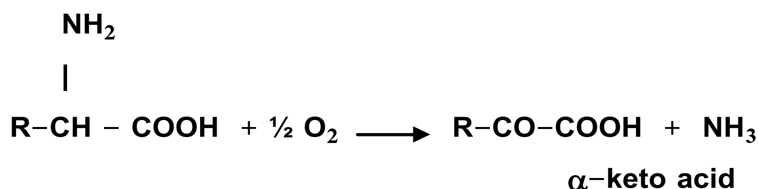
وتستخدم الأحماض الأمينية الناتجة عن نشاط إنزيمات البروتييز كمصادر للكربون والنيتروجين بواسطة أعداد لا حصر لها من الميكروبات الغير ذاتية التغذية والتي تتمكن كل مجموعة منها من استخدام العديد من هذه المركبات. وينطلق نيتروجين الأحماض الأمينية علي صورة أمونيا التي يستخدمها الميكروب كمصدر للنيتروجين، ومن التفاعلات الشائعة في تحلل الأحماض الأمينية نزع مجموعة الأمين Deamination ونزع مجموعة الكربوكسيل Decarboxylation.

أولاً : نزع مجموعة الأمين Deamination

أ) نزع جزئ الأمونيا مع تكوين حمض عضوى غير مشبع

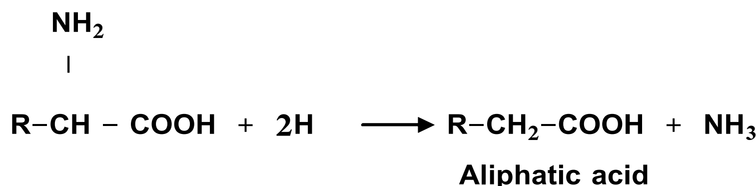


ب) نزع الأمونيا بالأكسدة مع تكوين حمض كيتوني Oxidative deamination

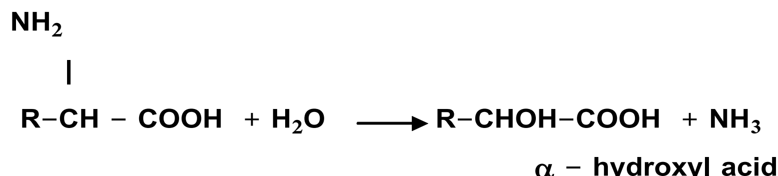


جـ) نزع الأمونيا بالاختزال مع تكوين حمض عضوى أليفاتي

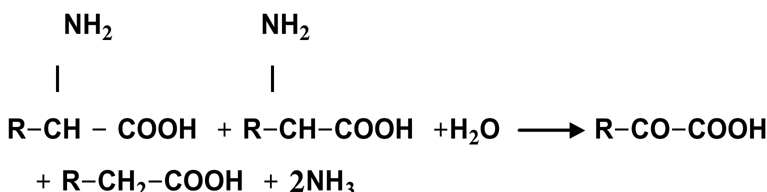
Reductive deamination



د) بالتحلل المائى مع تكوين حمض عضوي كحولي Hydrolytic deamination



هـ) باستخدام حمضيين أمينيين **Stickland reaction**

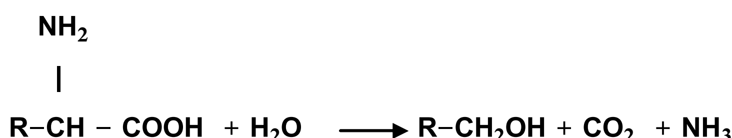


$$R{-}CH(NH_2){-}COOH + R{-}CH(NH_2){-}COOH + H_2O \longrightarrow R{-}CO{-}COOH + R{-}CH_2{-}COOH + 2NH_3$$

حيث يقوم الميكروب باستخدام حمضين أمينيين في نفس الوقت أحدهما يتأكسد والأخر يختزل.

و) التحلل المائي مع نزع مجموعتى الأمين والكربوكسيل ويتكون كحول.

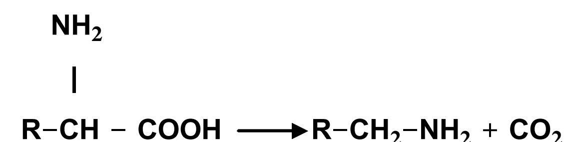
Hydrolytic deamination & decarboxylation



$$R{-}CH(NH_2){-}COOH + H_2O \longrightarrow R{-}CH_2OH + CO_2 + NH_3$$

Alcohol

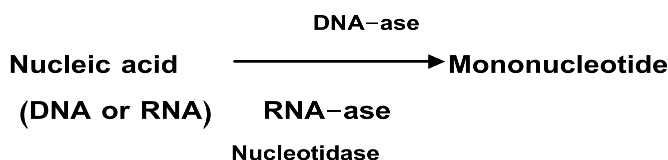
ثانياً: نزع مجموعة الكربوكسيل ويتكون أمين **Decarboxylation**



$$R{-}CH(NH_2){-}COOH \longrightarrow R{-}CH_2{-}NH_2 + CO_2$$

وتتميز بعض الأحماض الأمينية بمقاومتها للتحلل بينما نجد البعض الأخر قابلا للتحلل بدرجة واضحة، وتتكون الأمونيا بسهولة عند تحلل بعض الأحماض الأمينية في حين نجد أن البعض الأخر يتميز ببقائه كما هو في التربة لفترات طويلة، وبعد نزع الأمونيا نجد أن الجزء المتبقى من الحمض الأميني يهاجم بسهولة بواسطة الميكروبات الهوائية واللاهوائية منتجة CO_2 وأحماض عضوية مختلفة، هذا ويوجد عدد كبير من الكائنات الحية الدقيقة قادرة علي تحليل البروتين مثل البكتيريا الهوائية التي تبع جنس ***Bacillus*** ومنها ***B. subtilis, B. mycoides*** أو البكتيريا اللاهوائية التي تتبع جنس ***Clostridium*** مثل ***Cl. sporogenes*** والأكتينوبكتيريا وخصوصا الأنواع التي تنتمي إلي جنس ***Streptomyces*** .أيضاً يوجد العديد من الفطريات القادرة على تحليل البروتين مثل الأنواع التابعة لأجناس ***Aspergillus, Rhizopus*** .

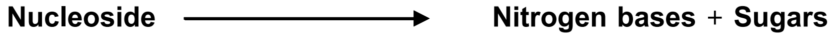
تحلل الأحماض النووية



Nucleic acid (DNA or RNA) —(DNA–ase / RNA–ase / Nucleotidase)→ **Mononucleotide**


Mononucleotide → Nucleoside+ H_3PO_4

Nucleosidase


Nucleoside → Nitrogen bases + Sugars


Nitrogen bases → Glyoxylic acid + Urea

Purine or pyrimidine

شكل ٢(٢) –٢: خطوات تحلل الأحماض النووية

ويستفاد عملياً من قدرة الكائنات الحية الدقيقة علي تحلل المواد العضوية النيتروجينية في عملية إنتاج السماد العضوي الصناعي **Compost** ، حيث تعمل هذه الكائنات الحية الدقيقة علي تقليل نسبة الـ **C:N** للمخلفات العضوية في نهاية عملية الـ **Composting**. كذلك يمكن الاستفادة من هذه الكائنات الحية الدقيقة والتي لها القدرة علي تحليل المواد البروتينية في إنتاج بعض الأحماض الأمينية والعضوية وذلك بتنميتها علي المخلفات العضوية التي تتميز بارتفاع محتواها من البروتين مثل مخلفات المجازر وبعض مخلفات التصنيع الغذائي.

التأزت (النترتة) Nitrification

عملية التأزت هي عملية أكسدة للأمونيا إلي نترات ويتم هذا بواسطة مجموعة من البكتيريا الأوتوتروفية وتسمي بكتريا التأزت **Nitrifying bacteria**، وتحدث عملية التأزت علي خطوتين ، الأولي تقوم بها البكتيريا التي تتبع جنس ***Nitrosomonas*** وفيها تتأكسد الأمونيا إلي نيتريت.


$$2\ NH_3 + 3\ O_2 \xrightarrow{Nitrosomonas} 2HNO_2 + 2\ H_2O + Energy$$

والخطوة الثانية تقوم بها البكتيريا التي تتبع جنس ***Nitrobacter*** وفيها يتأكسد النيتريت إلي نترات.

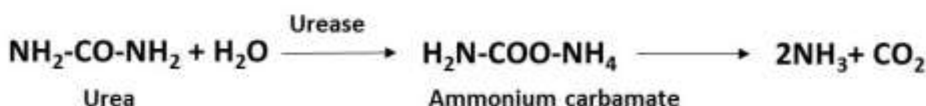

$$2\ HNO_2 + O_2 \xrightarrow{Nitrobacter} 2HNO_3 + Energy$$

ويجدر بالإشارة إلي أن عملية التأزت تعتبر من العمليات البيولوجية الهامة التي تحدث بالأراضي حيث أن النترات المتكونة من أكسدة الأمونيا هي أفضل الصور النيتروجينية المناسبة للامتصاص بواسطة النباتات.

تحلل اليوريا Urea decomposition

تمثل اليوريا إحدى نواتج تحلل القواعد النيتروجينية المكونة للأحماض النووية، كما تعتبر اليوريا من الأسمدة الكيميائية الهامة ، وقد تصل أيضا اليوريا للتربة عن طريق إفرازات الحيوانات الراقية Higher animals، وتعتبر اليوريا أحد المركبات الهامة في دورة النيتروجين حيث إنها تمثل إحدى النواتج الوسطية لعمليات التمثيل الغذائى للميكروبات، وأحد نواتج الإخراج الحيواني، وكونها أحد الأسمدة النيتروجينية الكيميائية الشائعة الاستعمال ، ومن المعروف أن اليوريا تتميز عن بقية الأسمدة النيتروجينية بارتفاع محتواها من النيتروجين (٤٦ ٪)، لذلك فهي تنتج بكثرة في مصر في مصانع أبى قير وطلخا، وتتحلل اليوريا المضافة للتربة بسهولة مائيا حيث يتحول الجزء الأكبر من نيتروجين اليوريا إلي أمونيا في خلال أيام وحيث ترتفع درجة pH الأراضى المضاف لها اليوريا إلي ما يقرب من pH ٨ وأحياناً pH ٩ خاصة في المناطق القريبة من جزيئات اليوريا المضافة وذلك علي الرغم من أن درجة pH علي مسافات صغيرة من المكان تقترب من التعادل أو اقل. وتحت مثل هذه الظروف القلوية نجد أن المنتج النهائى لتحلل اليوريا عبارة عن غاز الأمونيا وليس أملاح الأمونيوم حيث قد يفقد جزء كبير من نيتروجين اليوريا المضاف كسماد إلي الجو في صورة غاز الأمونيا. ونظرًا لأن المرحلة الأولى لتحلل اليوريا تتمثل في فقد عنصر النيتروجين المضاف علي صورة سماد فإن اهتماماً بالغاً قد وجه لدراسة وفهم العوامل التي تؤثر علي مثل هذا الفقد. وقد تبين أن الفقد بالتطاير Volatilization قد يتراوح من ١٠ إلي ٧٠ ٪ من نيتروجين اليوريا المضاف، وتشجع درجات الحرارة المرتفعة الفقد الناتج، هذا بالإضافة إلي أن الفقد يزداد في حالة إضافة اليوريا للطبقات السطحية عن إضافتها لطبقات التربة العميقة ، وفي حالة الأراضى المرتفعة عن الأراضى المنخفضة في درجة الـ pH، وينشط تحلل اليوريا بارتفاع درجات الحرارة ولو أن هذه العملية قد تحدث أيضا عند درجة حرارة منخفضة، كما تعتبر الرطوبة وتوفر الأكسجين والـ pH من العوامل البيئية المؤثرة علي معدل حدوث هذه العملية.

ويمكن للعديد من الميكروبات إفراز إنزيم اليوريز الذي يساعد علي تحلل اليوريا مائياً، ويعتبر هذا الإنزيم دائم الوجود في بعض الأنواع في حين أنه يستحث في بعض الأنواع الأخرى في وجود اليوريا ويعتبر كرباميت الأمونيوم الناتج الوسطي لتحلل اليوريا كما فى المعادلة التالية.



وتختلف أعداد الميكروبات النشطة في تحلل اليوريا من عدة ألاف في الأراضى العضوية من أصل نباتي إلي أكثر من مليون في الجرام في أكثر المناطق الملائمة لنشاط هذه الميكروبات، وتعمل البكتيريا والفطريات والأكتينوبكتيريا علي تخليق إنزيم اليورييز مما يمكنها من استخدام اليوريا كمصدر للنيتروجين ، ومن أكثر الأجناس الميكروبية التي درست قدرتها التحليلية لليوريا *Klebsiella, Pseudomonas, Micrococcus, Bacillus, Clostridium* ومجموعة عديدة من الفطريات والأكتينوبكتيريا، ويوجد مجموعة من البكتيريا الحقيقية تعرف ببكتيريا تحلل اليوريا ليس لأنها أكثر الميكروبات المحللة لليوريا انتشاراً ولكن لمقاومتها للتركيزات العالية من اليوريا وتفضيلها للنمو في وجود مثل هذا المركب، وهذه البكتريا بعضها كروى والأخر عصوي متجرثم.

وتتمكن كلتا المجموعتين من النمو في أوساط قلوية وإنتاج كميات كبيرة من الأمونيا، وتتبع البكتيريا العصوية جنس *Bacillus* ، ومن أمثلتها *B.freudenreichii* ,*B. pasteurii*

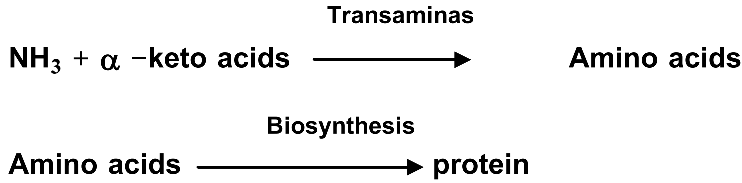
ويوجد أيضاً ميكروبات كروية قادرة علي تحليل اليوريا وهي : *Micrococcus urea and Sporosarcina urea*

تثبيت نيتروجين الهواء الجوي Nitrogen fixation

المقصود بعملية التثبيت الحيوي للنيتروجين هو تحويل النيتروجين الجوي بواسطة الكائنات الحية الدقيقة إلي أمونيا بواسطة إنزيم النيتروجينيز التي تفرزه هذه الكائنات الحية شكل[٢ (٢)٣].

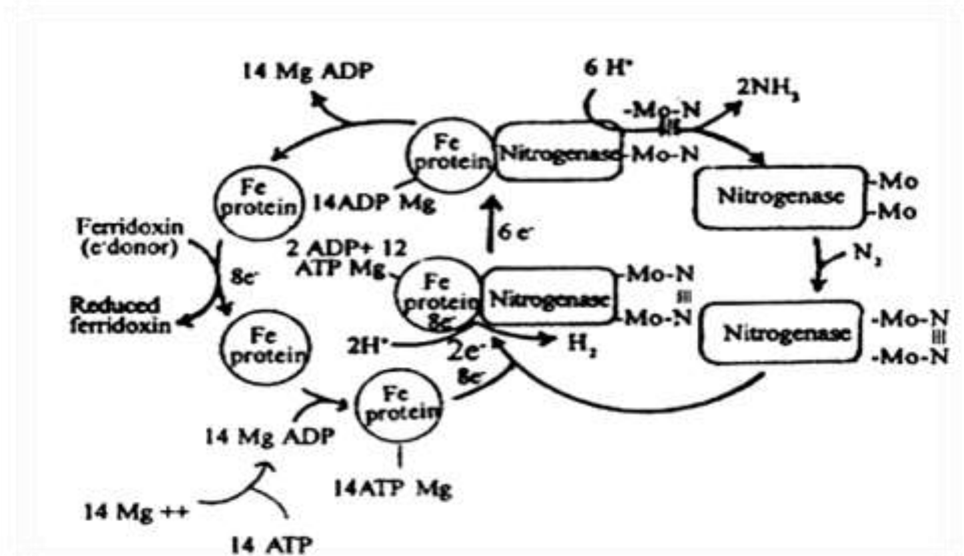


ثم ترتبط الأمونيا بالأحماض العضوية الكيتونية مثل الجلوتاميك حيث يحدث عملية Transamination وهي نقل مجموعة أمين إلي حمض عضوي كيتوني ويتكون حمض أميني ويحدث ذلك بواسطة إنزيمات الـ Transaminases ثم ترتبط الأحماض الأمينية مع بعضها بواسطة الروابط الببتيدية ويتكون جزئ البروتين.



$$NH_3 + \alpha\text{-keto acids} \xrightarrow{\text{Transaminas}} \text{Amino acids}$$

$$\text{Amino acids} \xrightarrow{\text{Biosynthesis}} \text{protein}$$



شكل٢ (٢) -٣: ميكانيكية عمل إنزيم النيتروجينيز

وفي الطبيعة نجد أن عملية تثبيت النيتروجين بيولوجيا تلي عملية التمثيل الضوئي من حيث الأهمية لاستمرار الحياة علي سطح الأرض حيث أنه من المعروف أن عنصر النيتروجين يتعرض إلي فقد مستمر بسبب عمليات بيولوجية وغير بيولوجية مثل الفقد مع مياه الصرف Drainage water والفقد بالتطاير وكذلك ما تمتصه المحاصيل المختلفة، لذلك تتوقف خصوبة التربة علي مقدار الكمية التي تعوض هذا النقص سواء بإضافة الأسمدة النيتروجينية المعدنية أو العضوية إلا أن ذلك لا يعوض إلا نسبة ضئيلة من النيتروجين الذي تفقده التربة، لذلك نجد أن عملية تثبيت نيتروجين الهواء الجوي بيولوجيا هى التى تعوض الجزء الأكبر.

ونظرًا للارتفاع الرهيب في أسعار الإنتاج في السنوات الأخيرة، فان الاتجاه الأن هو محاولة الاستفادة الكاملة من عملية التثبيت البيولوجي للحد من استعمال الأسمدة المعدنية الأزوتية التي أصبحت أسعارها في غير متناول اليد، كما يسبب الإفراط في استعمالها تلوثاً للمياه والأراضي، ولتوضيح الأهمية الاقتصادية لعملية التثبيت البيولوجي في محصول زراعي واحد مثل الفول البلدي ، فأنه بفرض أن عملية التثبيت توفر ٦٠ وحدة أزوت / فدان ثمنها ٩٠ جنيها

فإن الوفر الناتج عن زراعة مليون فدان سيصبح ٩٠ مليون جنيه وينطبق القول علي المحاصيل البقولية الأخرى، ويتضح الأهمية الاقتصادية لعملية التثبيت عند مقارنة ثمن ١كجم نيتروجين بالسماد المعدني بثمن ١كجم نيتروجين الناتج من استعمال الطحالب أو الريزوبيا، حيث يصل في الحالة الأولي إلي ما يزيد عن مائة وخمسون قرشا، بينما لا يزيد ثمنه في الحالة الثانية عن خمسة وعشرون قرشا، ومن هنا يتضح الأهمية القصوى لعملية التثبيت البيولوجية للنيتروجين. ووجد أن كمية النيتروجين التي تثبتها الميكروبات من الهواء الجوي ما يقرب من ١٠ ^{٨} -١٠ ^{٩} طن نيتروجين في السنة يتم تكوينها في التربة عن طريق دورة الأزوت الحيوية Biological nitrogen cycle لتعويض ما فقد من هذا العنصر الهام، وطبقاً للإحصائيات الحديثة فإن ما يزيد عن ٩٠٪ من نيتروجين التربة في العالم يسترجع ثانية عن طريق عمليات التثبيت الحيوية Biological fixation بواسطة الميكروبات، أما ما يثبت بواسطة غير الميكروبات فيقدر بحوالي ٠,٥٪ بواسطة البرق وبحوالي ٥٪ بطريقة هابر/ بوش.

ويمكن تقسيم الميكروبات المثبتة للنيتروجين الجوي كما يلي:

أولاً: تثبيت النيتروجين لاتكافلياً Non – symbiotic N_2 fixation

يوجد العديد من سلالات الميكروبات بدائية النواة لها القدرة علي تثبيت النيتروجين الجوي لاتكافلياً ومنها:

١- البكتيريا غير ذاتية التغذية Heterotrophs

أ-بكتيريا هوائية مثل الأنواع التى تتبع أجناس *Azomonas, Azotobacter, Azotococcus, Beijerinckia, Derxia, Methylomonas,* and *Bacillus*.

ب- بكتيريا احتياجاتها بسيطة للأكسجين مثل الأنواع التى تتبع جنس *Azospirillum*

ج-بكتيريا لاهوائية اختياراً مثل الأنواع التى تتبع أجناس *Enterobacter* and *Klebsiella* .

د- بكتيريا لاهوائية مثل الأنواع التى تتبع أجناس *Desulfotomaculum, Desulfovibrio* and *Clostridium* .

٢- البكتيريا الممثلة للضوء Phototrophs ومنها نوعان:

(أ) بكتيريا ممثلة للضوء غير أكسجينية: وهى بكتيريا لاهوائية ولاينطلق أكسجين أثناء قيامها بعملية التمثيل الضوئى، ومنها الأنواع التى تتبع أجناس *Rhodopseudomonas, Rhodomicrobium* and *Rhodospirillum* والتى تنتمي إلي البكتيريا الأرجوانية غير

الكبريتية وجنس *Chromatium* من بكتيريا الكبريت الأرجوانية وجنس *Chlorobium* التابع لبكتيريا الكبريت الخضراء.

(ب) البكتيريا الممثلة للضوء الأكسجينية (السيانوبكتيريا): وهى التي لها القدرة على التمثيل الضوئى وإنتاج أكسجين ومنها الأنواع التى تتبع أجناس :

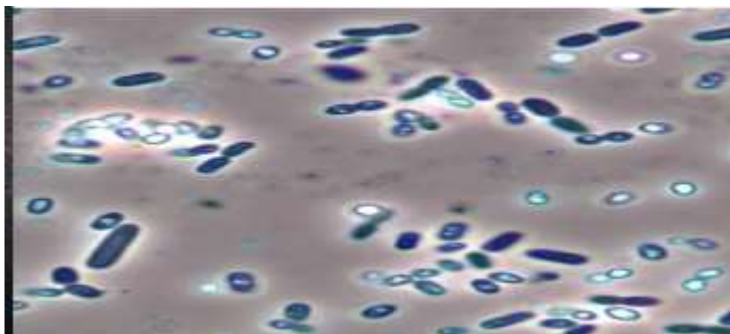
Plectonema, Anabaena, Calothrix, Mastigolcadus, Nostoc.

وسنتناول باختصار شرح بعض الصفات لأهم الميكروبات المثبتة لأزوت الهواء الجوي لاتكافلياً فيما يلى:

- جنس *Azotobacter*

يعتبر جنس الأزوتوباكتر *Azotobacter* من البكتيريا السالبة لصبغة جرام ومن أكثر الميكروبات التي حظيت بنصيب وافر من الاهتمام والدراسة، ومع هذا فيجب ألا يؤخذ التوافر الشديد في المعلومات المتعلقة بهذه المجموعة من الميكروبات كدليل علي أنها أكثر الميكروبات المثبتة للنيتروجين الجوي أهمية، وتتميز بكتيريا الأزوتوباكتر بأنها هوائية حتما، حيث يعتبر معدل تنفسها من أكبر المعدلات مقارنة بالميكروبات الهوائية الأخرى والميكروب قد يكون صبغات صفراء أو بنية غامقة غير قابلة للذوبان بالبيئة. وهذا الميكروب يعيش أساساً في التربة، من أهم الأنواع التى تنتمي إلي هذا الجنس ما يلي:

متحرك – يفرز صبغة بنية غامقة	*Azotobacter chroococcum*
غير متحرك يفرز صبغة صفراء	*Azotobacter beijerinckii*
متحرك–يفرز صبغات خضراء مصفرة إلي حمراء أرجوانية – يحلل المانيتول	*Azotobacter vinelandii*
متحرك–يفرز صبغات خضراء مصفرة أو حمراء أرجوانية–لا يحلل المانيتول	*Azotobacter paspali*



شكل : ٢(٢) -٤: *Azotobacter chroococcum*

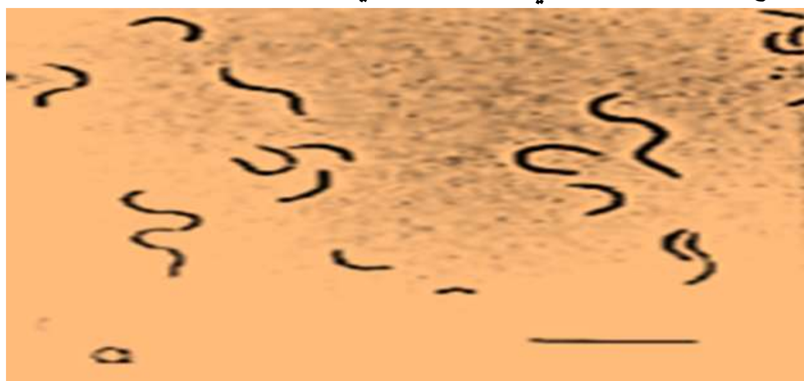
والأزوتوباكتر لا يستطيع أن يحلل الكربوهيدرات المعقدة مثل السيليولوز، لذلك فإنه يحصل علي مصادر الكربون والطاقة من السكريات البسيطة أو الأحماض العضوية الناتجة في التربة بفعل الميكروبات الأخرى. والأزوتوباكتر يستطيع أن يثبت كميات كبيرة من الأزوت وكلما كان الوسط خالى من أملاح النيتروجين يزداد معدل التثبيت ولكن لابد من توفر مصادر الطاقة اللازمة للتثبيت، ويعتبر عنصر الفوسفور هام جداً للأزوتوباكتر، وأنسب درجة حموضة لهذا الميكروب تتراوح من ٦,٥-٨ لذلك نجد أن الأراضى المتعادلة أو التى تميل قليلاً إلي القلوية يوجد بها الأزوتوباكتر بأعداد عالية جداً بعكس الأراضى الحمضية حيث تتواجد بكتيريا الأزوتوباكتر بأعداد قليلة. وتستطيع بكتيريا الأزوتوباكتر أن تعيش في صورة تعاونية مع بعض أنواع السيانوبكتيريا مثل النوستوك والأنابينا حيث تمد هذه الانواع من البكتيريا الزرقاء الأزوتوباكتر بمصادر الكربون والطاقة مثل الكربوهيدرات الناتجة من التمثيل الضوئى لهذه الانواع من البكتيريا الزرقاء.

- جنس *Azospirillum*

بكتيريا *Azospirillum* خلاياها حلزونية قصيرة سالبة لصبغة لجرام غير متجرثمة متحركة بخصلة من الاسواط الطرفية وهو هوائى ولكن يثبت النيتروجين تحت الظروف قليلة الأكسجين Microaerophilic أى عند ضغط أكسجينى PO_2 أقل من ٠,٠١ جوى، والحرارة المثلى له من ٢٥-٣٠° م ويلائمه الوسط المتعادل حيث أنه حساس للحموضة، ويحصل الميكروب على الطاقة من أكسدة الأحماض العضوية مثل اللاكتيك أو الماليك، وينمو جيدا في بيئة الجلوكوز أو السكروز ولكنها تشجع نمو ميكروبات أخرى معه كما يعزل هذا الميكروب على بيئة نصف صلبة بها مالات الكالسيوم ومستخلص الخميرة ويوجد نوعين هما:

- *Azospirillum brasilense* وهو موجب لاختبار الكتاليز ولا يحتاج في نموه إلي بيوتين.

- *Azospirillum lipoferum* وهو سالب لاختبار الكتاليز ويحتاج في نموه إلي البيوتين وهذا النوع هو الأكثر انتشاراً في الأراضى المصرية.



شكل٢(٢) -٥: *Azospirillum* sp.

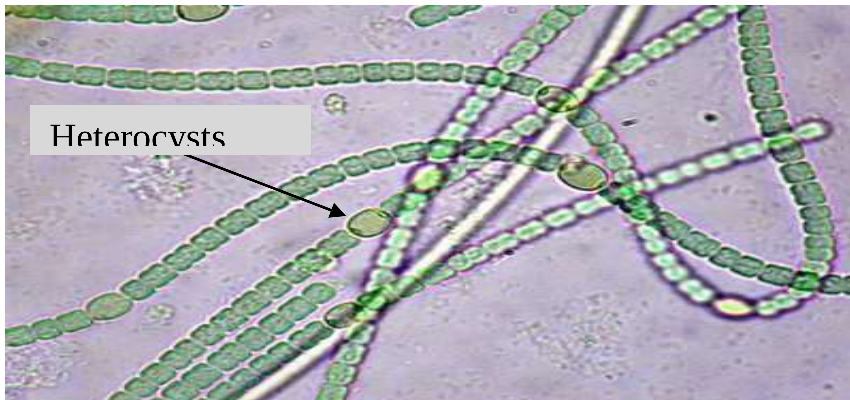
وينتشر هذا الميكروب في أراضى الحشائش والمنزرعة حبوب. ويعتبر هذا الميكروب من أهم الميكروبات المثبتة نظرا لأنه يستطيع تثبيت النيتروجين في الحالة الحرة وأيضا بالتعاون مع جذور بعض النباتات وأكثرها النباتات النجيلية، حيث يدخل الميكروب إلى داخل الجذر بمساعدة إنزيمات البكتينيز التي يفرزها ثم يستقر داخل الصفيحة الوسطى أو على سطوح تلك الجذور ولذلك فهى نصف تكافلية ويطلق عليها Semi-symbiotic N_2-fixer. ومما هو جدير بالذكر أن هذا الميكروب يثبت الأزوت بكفاءة عالية حيث يستطيع تثبيت كميات من الأزوت بمعدلات تقترب من الكمية التى تثبت بواسطة الأزوتوباكتر حيث تبلغ ٣٠ كجم أزوت/ فدان/ سنة، وميكروبات الأزوسبيريللام تستخدم حالياً بكثرة كمخصبات حيوية لمعظم محاصيل الحبوب مثل الذرة والقمح والشعير والذرة الرفيعة وقصب السكر والأرز، ولقد تم عزل نوع أخر للأزوسبيريللام من مناطق الأمازون بأمريكا الجنوبية بواسطة (Dobereiner ١٩٨٣) أسمته *Azospirillum amazonenses* حيث يوجد بكثرة في أراضى النجيليات والنخيل. وهذا النوع يختلف كثيراً عن الأنواع السابقة حيث أنه حساس للقلوية والأكسجين.

ويجب أن تشير إلي أن النوع *Azos. brasilense* يستطيع أن يتعايش بدرجة أكبر مع النباتات ذات نظام التمثيل الضوئى C_3 أى النباتات ثلاثية الكربون ومن هذه النباتات الأرز، القمح، الشعير والراى، أما النوع *Azos. lipoferum* يستطيع أن يتعايش بدرجة أكبر مع النباتات ذات نظام التمثيل الضوئى C_4 أى النباتات رباعية الكربون مثل الذرة والذرة السكرية ونباتات المراعي، وتشير نتائج الأبحاث الحديثة أنه يمكن إضافة مثل هذه الميكروبات كمخصبات حيوية لمعظم المحاصيل خاصة محاصيل الحبوب والخضر حيث تستطيع أن تثبت كميات لا باس

بها من الأزوت بالإضافة إلي قدرة هذه الميكروبات علي إفراز الكثير من منشطات النمو مثل الإندولات والجبريللينات والسيتوكينينات.

السيانوبكتيريا (البكتريا الزرقاء) Cyanobacteria

لا تنتشر السيانوبكتيريا في الأراضى ذات الصرف الجيد بينما تتواجد بكثافة عددية كبيرة في الأراضى الغدقة، وتتميز العديد من هذه الميكروبات المعزولة من التربة بنموها في بيئات سائلة خالية من مركبات النيتروجين مؤدية بذلك إلي زيادة محتوي النيتروجين الكلي لهذه البيئات، ومع ذلك فليست كل السيانوبكتريا قادرة علي استخدام النيتروجين الجوي، وتؤدي زيادة الإضاءة إلي تشجيع عملية تثبيت النيتروجين الجوي التي تقوم بها الأنواع النشطة من السيانوبكتريا بينما تعمل الإضاءة الشديدة علي تثبيط هذه العملية. وعموماً تقوم هذه الميكروبات بتثبيت النيتروجين الجوي ببطء حيث وجد أن الزيادة في محتوى النيتروجين الكلي في بيئاتها من ٣٠ إلي ١١٥ ميكروجرام نيتروجين لكل سم^{٣} يحتاج إلي ١,٥ إلي ٢ شهر لمعظم العزلات التابعة لأجناس ***Anabaenopsis, Tolypothrix, Nostoc, Cylindrospermum, Anabaena, Calothrix*** **and** ***Aulosira*** . لهذا فإن عملية تثبيت النيتروجين الجوي التي تقوم بها هذه الميكروبات تعد أقل سرعة منها في حالة الأزوتوباكتر والكلوستريديا، ويتمكن العديد من هذه الميكروبات في مزارعها النقية من النمو البطئ في الظلام بشرط توفر السكر اللازم كمصدر للكربون والطاقة ويستتبع ذلك زيادة ضئيلة في محتوى بيئاتها من النيتروجين الكلي، وقد لا يكون لتثبيت النيتروجين الجوي في الأجواء المظلمة أى أهمية اقتصادية في حين نجد أن توفر الإضاءة الكافية لكل من السيانوبكتريا يشجع نمو هذه الميكروبات بدرجة أكبر من الميكروبات غير الذاتية التغذية المثبتة للنيتروجين الجوي وذلك لمقدرة الأولي علي النمو دون اعتماد علي مصادر المواد الكربوهيدراتية المحدودة في التربة.



شكل ٢ (٢) –٦: بكتيريا زرقاء بها خلايا الهيتيروسيست

ويستطيع الجنس ***Nostoc*** أن يثبت ١٠ مليجرام نيتروجين في ٤٥ يوم ١٨ مليجرام في ٨٥ يوم لكل ١٠٠سم٣ من البيئة، وفي موسم زراعة المحصول تثبت هذه السيانوبكتيريا من ١٠- ٢٥ كجم أزوت / فدان، ولقد وجد أن حوالي ٣٠٪ من الأزوت المثبت بالطحالب ينساب إلي الوسط الخارجي في صورة أحماض أمينية أهمها الجلوتاميك والأسبارتيك ثم الألانين كما وقد ينساب النيتروجين المثبت في صورة أمونيا، وعندما تزيد كمية النيتروجين المثبتة بالسيانوبكتيريا أو في البيئة عن حاجته فإن الطحلب يخزن هذا النيتروجين الزائد في مركبين أساسيين:

١- صبغة الـ **Phycocyanin** التي تعمل مع صبغات النظام الضوئي رقم ٢ (وهو الخاص بتحليل الماء وانطلاق الأكسجين) كمخزن للنيتروجين و تمد السيانوبكتيريا به في حالة نقصه.

٢- الحبيبات البنائية **Structural granules** وهي غالبا بلمرات من حمض الأسبارتيك والأرجنين التي قد تشغل في بعض الأحيان من ١٠-٣٠٪ من وزن الخلية، توجد السيانوبكتيريا في المياه العذبة والمالحة وينتشر الجنسان ***Nostoc & Anabaena*** علي نطاق واسع ، وهذه البوليمرات تنتج حاليا على نطاق واسع فى محضنات ضوئية كبيرة الحجم وتستخلص ويتم تنقيتها وإستخدامها فى الأغراض الطبية.

تتم عملية تثبيت النيتروجين الجوي في الخلايا الخضرية في السيانوبكتيريا تحت شروط لا هوائية وذلك في السيانوبكتيريا التي لا تكون هيتيروسيست، بينما العملية تتم تحت الظروف الهوائية في السيانوبكتيريا المكونة للهيتيروسيست حيث نجد أن هذه الخلايا هي مكان التثبيت بينما تقوم الخلايا الخضرية بعملية تثبيت الكربون وإخراج الأكسجين. تمتاز خلايا الهيتيروسيست عن الخلايا الخضرية في أنها خالية من صبغة الفيكوسيانين ومن حبيبات **Polyphosphate** ومن النظام الضوئي رقم ٢ ، غير أنها تحتوي علي النظام الضوئي رقم ١ المسئول عن تثبيت ثانى أكسيد الكربون في حالة نشطة، ولها منافذ تربطها بالخلية الخضرية ونسبة الكربون إلي النيتروجين بها حوالي ٨ : ١ وخلايا الهيتيروسيست النشطة تكون خالية من الصبغات الضوئية. وعمر الجيل في السيانوبكتيريا أطول من مثيله في البكتريا حيث يبلغ ٢٠-٢٥ ساعة في حالة ***Nostoc & Anabaena*** ، ولتنمية السيانوبكتيريا الخيطية المكونة للهيتيروسيست تستعمل طريقة المزرعة الثابتة لأن استعمال طريقة المزرعة المهتزة بما فيها من رج وتقليب يترتب عليه كسر خيوط السيانوبكتيريا وتقليل كفاءته في التثبيت، وبالإضافة إلي عوامل الإضاءة والتهوية

وتوفر عناصر التغذية فإن العوامل البيئية المؤثرة علي كفاءة السيانوبكتيريا في النمو والتثبيت ما يلي:

١-الجفاف Desiccation : يعتبر الجفاف من العوامل الهامة المحددة لمعدل النمو والتثبيت ويزيد المعدل بزيادة رطوبة الوسط.

٢-الحرارة Temperature : يتأثر معدل التثبيت بدرجة الحرارة، ويحدث أعلي معدل تثبيت لأعلي الأنواع ما بين درجة ٢٥-٥٠°م ويبدو أنه لا يحدث تثبيت بعد درجة حرارة ٦٠°م.

السيانوبكتيريا والمعيشة التكافلية

تستطيع بعض أنواع السيانوبكتيريا أن تثبت النيتروجين الجوي وهي في معيشة تعاونية مع نباتات أخري متعددة تتراوح ما بين الفطريات إلي مغطاة البذور، ولكل عائل نوع خاص به وذلك كما يتضح من الجدول التالي:

Cyanophyta: Eucaryotic plant symbiosis.

Symbiotic plant	Genera	Endophyte
Fungi (lichens) الأشنات	*Collema, Peltigera*	*Nostoc*
Bryophyta الحزازيات	*Anthoceros, Blasia*	
Pteridophyta Fern السراخس	*Azolla*	
Gymnosperm(Cycads) معراة البذور	*Cycas, Macrozamia*	
Angiosperm مغطاة البذور	*Gunnera*	

وتعتبر السيانوبكتيريا الخيطية وخاصة المكونة للهيتيروسيست من أنسب الكائنات المجهرية للتسميد الأزوتي في هذا الوسط حيث لها القدرة علي التثبيت في وجود الماء مستخدمة الطاقة الشمسية وهذه هي احتياجاتها الأساسية للتثبيت الأزوتي بالإضافة إلي الفوسفور. وبالإضافة إلي قدرة السيانوبكتيريا علي تثبيت أزوت الهواء الجوي، فأنها تفرز

مجموعة من العوامل المساعدة علي النمو مثل IAA وفيتامينات مثل B12 وحمض الأسكوربيك حيث تؤدي عملية التلقيح إلي زيادة إنتاج المحصول المنزرع.

وتستخدم السيانوبكتيريا في الأراضي المزروعة في بعض البلاد كما في الهند لمعالجة الأرض القلوية التي يصل فيها الـ pH إلي ٩.٥ أو أكثر حيث تستعمل السيانوبكتيريا أيون الكربونات كمصدر كربوني لبناء أجسامه. كما تجري الأن تجارب لإنتاج سلالات من السيانوبكتيريا المثبتة للأزوت تكون خالية من إنزيم Glutamine synthetase فلا يتحول الأزوت المثبت بأجسامها في صورة أمونيا إلي أحماض أمينية ولكن تنساب تلك الأمونيا خارج الخلايا إلي البيئة حيث يمكن استخدامها في إنتاج المخصبات الحيوية الأزوتية وبذلك يستفاد من الطاقة الشمسية بطريقة بيولوجية في إنتاج الأسمدة الحيوية الأزوتية.

أهمية السيانوبكتيريا Importance of cyanobacteria

السيانوبكتيريا واسعة الانتشار، وقادرة على النمو فى أوساط طبيعية متعددة، ولها قدرة كبيرة على التلاؤم مع الوسط، وتلعب بالوسط الذى توجد به أدوارا هامة، من هذه الأدوار ماهو مفيد ومنها ماهو ضار.

ومن النواحى المفيدة للسيانوبكتيريا

١- تثبيت نيتروجين الهواء الجوى

معظم أنواع السيانوبكتيريا قادرة على تثبيت نيتروجين الهواء الجوى تحت ظروف هوائية ،وأوضح ما تكون عملية التثبيت نجده فى الأراضى الغدقة المنزرعة ، وربما تعود إنتاجية وخصوبة الأراضى الفقيرة فى النيتروجين ، إلى وجود السيانوبكتيريا بها ، حيث وجد أن السيانوبكتيريا تثبت بتلك الأراضى الفقيرة فى النيتروجين حوالى ٤٠ كجم نيتروجين لكل هكتار فى السنة . وبالإضافة الى تواجد السيانوبكتيريا بشكل طبيعى فى بعض الأراضى ، خاصة الغدقة ، فإن السلالات المختارة من السيانوبكتيريا تنمى بأحواض مناسبة ، وتجهز كلقاح ، ليستعمل كسماد حيوى بالأرض المنزرعة وذلك لإثراء التربة بالنيتروجين ومنظمات النمو الحيوية.

٢- تحسين خواص التربة

تعتبر السيانوبكتيريا من محسنات التربة التى تعظم من خواصها الطبيعية والكيميائية والحيوية، بتحسينها لخواص التربة من حيث البناء والقوام، والتحبب والتماسك والاحتفاظ بالرطوبة، وتوفير بعض المغذيات الكيميائية وتشجيع نمو الكائنات الدقيقة من مواد عضوية، وماتفرزه من سكريات معقدة ومغذيات ومنظمات نمو، خاصة فى طبقة التربة السطحية، حيث يتوفر بها الضوء والماء، إضافة إلى ما تثبته من نيتروجين الهواء الجوي. وفى بعض الأراضى ،

مثل مناطق الإستبس النصف جافة ، تكون السيانوبكتيريا أغلب أنواعها النامية بالتربة خيطية لزجة ذات غلاف سميك وتكون قشرة على سطح الأرض ، وهذه القشرة المتكونة من السيانوبكتيريا تحسن من خواص التربة التى تقع بأسفلها ، بما تثبته السيانوبكتيريا من نيتروجين ، وما تفرزه من مغذيات ، كما أن تلك القشرة توفر حماية للتربة من الجفاف السريع ، وتقلل من فقد الماء بالهواء ، وتزيد من احتفاظ التربة بالمياه . وتلعب السيانوبكتيريا النامية على الصخور وفى شقوقها، بما تفرزه من أحماض وما تخلفه من مواد عضوية وما تثبته من نيتروجين، الخطوات الأولى فى تحويل تلك الصخور، إلى تربة صالحة لتتابع النمو النباتى عليها.

٣- إفراز منظمات النمو

تفرز السيانوبكتيريا اثناء نموها الكثير من المواد المشجعة على النمو، تسمى بمنظمات النمو، ومن هذه المواد المفرزة، الفيتامينات (مثل فيتامين B12 والأسكوربيك ، والأوكسينات والجبريللين والسيتوكينين) والأحماض الأمينية مثل الألانين والجليسين والجلوتامين ، والأحماض الأمينية الحلقية كالفينايل ألانين. وفى الأراضى الزراعية الملقحة بالسيانوبكتيريا ، فإن ما تفرزه السيانوبكتيريا من منظمات للنمو بجانب ما تثبته من نيتروجين ، تعمل على زيادة إنتاجية الأراضى مما بها من محاصيل منزرعة ، مثل الأرز وبعض محاصيل الخضر مثل البطاطس والطماطم والفلفل والخس.

٤-إفراز مواد حيوية فعالة

تفرز بعض انواع السيانوبكتيريا، مواداً حيوية مؤثرة على الوسط الذى تعيش به، ومنها ما يعمل كمضادات حيوية مقاومة للكائنات الممرضة الموجودة بالتربة، ومنها ما يستخدم فى العلاج الطبى ، ومن أمثلة هذه المواد التى تم التعرف عليها

أ – 2,5-Dimethyl dodecanoic acid وهو مضاد للحشائش ويفرزه *Lyngbya aestuarii* .

ب – Cyanobacterin

وهى مادة كلورينية تحتوى على o –Lactone ، وتفرزها *Scytonema hofinanni*

جـ – Indole alkaloid hapalindole وهو مضاد للفطريات ، ويفرزه *Hapalosiphon fontinalis.*

د – δ-Lactone malyngolide وهو مضاد للبكتيريا ويفرزه *Lyngbya majuscule.*

هـ – ومن المواد الحيوية التى تم التعرف عليها ، مادة Sulfonic acid- containing glycolipids التى تفرزها *Lyngbya lagerheimii* and *Phormidium tenue*

وتستعمل هذه المادة فى مقاومة الفيروسات المسببة لأمراض نقص المناعة بالجسم .

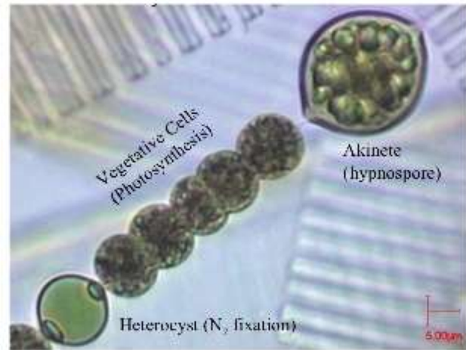
٥ – غذاء الأسماك

يوفر وجود السيانوبكتيريا فى البلانكتون سواء فى البحار او المياه العذبة مصدراً غذائياً للأسماك والأحياء المائية الصغيرة. كما يؤدى التمثيل الضوئى للسيانوبكتيريا بالمياه الى توفير الأكسجين اللازم لحياة الأسماك وإزالة CO_2 الضار بها كما أن نمو السيانوبكتيريا بالمياه يوفر بها المادة العضوية والنيتروجين المثبت والمواد المشجعة للنمو مما يزيد من خصوبة تلك المياه.

٦- التخلص من المعادن الثقيلة Removal of heavy metals

تستطيع السيانوبكتيريا والطحالب الخيطية حقيقية النواه النامية بالبحيرات ومجارى أنهار المناطق الصناعية تخفيض محتويات الوسط المائى مما به من معادن ثقيلة مثل Cu, Hg, Mn, Pb, Zn من المستويات السامة إلى الحدود المسموح بها . وتقوم السيانوبكتيريا بامتصاص تلك المعادن الثقيلة وترسيبها بجدارها الخلوى وأحياناً قد ترسبها فى محتويات الخلية الداخلية.

ومن أجناس السيانوبكتيريا النشطة فى تلك العمليات الحيوية *Anabaena , Plectonema, Synechococcus* .





شكل ٢ (٢) -٧: *Anabaena* و *Synechococcus*

٧- نواتج تخميرية Fermented products

تستخدم أنواع من السيانوبكتيريا فى تقنيات حيوية لإنتاج بعض المواد المفيدة كالسماد الحيوى الذي يستخدم في تلقيح التربة المنزرعة، والبروتين وحيد الخلية الذى يستعمل كغذاء للإنسان، وكعلف للحيوان.

التقنية الحيوية والسيانوبكتيريا Cyanobacteria and Biotechnology

تمثل السيانوبكتيريا مجموعة فريدة من بدائيات النواة ، تتميز فى سهولة تنميتها باستعمالها لمصادر طبيعية متوفرة ورخيصة الثمن ، وذلك باستخدامها لضوء الشمس كمصدر

للطاقة مع إنتاجها للأكسجين وفى تمثيلها لثانى أكسيد كربون الجو لبناء مكونات الخلية الكربونية العضوية والبروتينية . وتعتمد الكثير من طرق استخدام السيانوبكتريا فى التقنيات الحيوية على تلك الخصائص التى تتميز بها السيانوبكتيريا.

ومن أهم تلك التقنيات انتاج الكتلة الحيوية من السيانوبكتيريا، حيث تُنَّمى السيانوبكتيريا تحت ظروف مناسبة للحصول على إنتاج وفير من كتلتها الحيوية، ويستخدم الناتج من الكتلة الحيوية فى أغراض عديدة منها السماد الحيوى والغاز الحيوى والغذاء للإنسان والعلف للحيوان.

١ – السماد الحيوى Biofertilizer

تستخدم السيانوبكتيريا لإنتاج سماد حيوى رخيص الثمن ، تسمد به الأراضى الغدقة المنزرعة ، مما يؤدى الى زيادة إنتاجية المحصول المنزرع ، بما يوفره من سماد نيتروجينى مثبت (حوالى ١٠ الى ٣٠ كجم N / فدان فى موسم الزراعة) ، وبما تفرزه سيانوبكتيريا السماد الحيوى من مغذيات ومواد منظمة للنمو ، وماتخلفه من مواد عضوية بالتربة، مما يؤدى الى زيادة المحصول بنسبة تصل إلى حوالى١٥% ، ويتم إنتاج سماد السيانوبكتيريا الحيوى ، بتنمية سلالات السيانوبكتيريا المختارة ذات الكفاءة العالية فى النمو والتثبيت مثل تلك التابعة لأجناس *Anabaena, Nostoc, Plectonema, Tolypothrix* فى أحواض أسمنتية حوالى ١ × ٢ متر ، مفروش فى قاعها طبقة من التربة المخلوط بها السوبر فوسفات ، والمغمورة بالمياه بارتفاع ٥–١٥ سم . وقد تقام الأحواض الأسمنتية بالحقل تحت ظروف طبيعية للاستفادة من الضوء والهواء، أو تقام داخل صوبات زجاجية مزودة بإضاءة صناعية. وبعد تلقيح السيانوبكتيريا بالأحواض، تترك للنمو لمدة أسبوعين تقريباً، حتى يتم تكون طبقة كثيفة من السيانوبكتيريا على سطح الماء، ثم تجمع السيانوبكتيريا النامية بكشطها وتترك لتجف قليلاً لتشجيع تحول خلايا السيانوبكتيريا الخضرية، الى جراثيم ساكنة (جراثيم الأكينيت)، وهذه الجراثيم تمثل الوسيلة المناسبة للمحافظة على حيوية لقاح السيانوبكتيريا الذى يعد للتسويق.

يباع اللقاح الناتج محملاً على مادة حاملة مناسبة، معبأ فى أكياس من البولى اثيلين ، ويحتوى الكيس على حوالى ٢٠٠ جرام وهى كمية تكفى لتلقيح مساحة فدان منزرع . وعند الاستعمال يخلط اللقاح بكمية مناسبة من الرمل أو التربة الناعمة، ويضاف للأرض نثراً فوق سطح الماء، وعند انتاج لقاحات السيانوبكتيريا يجب الاهتمام بالسلالات المحلية المتوطنة بالتربة، بتوفير الظروف البيئية المناسبة لنموها وتكاثرها، لما تتميز به تلك السلالات المتوطنة عن غيرها المنقولة من قدرة على التلاؤم مع الظروف البيئية المحلية المحيطة بها.

٢- الغاز الحيوى **Biogas**

يمكن استخدام الكتلة الحيوية الناتجة من نمو السيانوبكتيريا فى إنتاج طاقة بديلة تعرف بالغاز الحيوى، الذى يتكون من حوالى ٦٠% ميثان و ٤٠% ثانى أكسيد الكربون.

ويُنتج الغاز الحيوى بالتخمير اللاهوائى للمخلفات العضوية فى مخمرات مناسبة يجرى تقليب محتوياتها باستمرار، ويستعمل الغاز الحيوى الناتج كبديل لمصادر الطاقة التقليدية، فى الإنارة والطهى والتدفئة وتوليد الكهرباء خاصة فى المناطق الريفية والمناطق النائية التى يصعب توفير البترول بها .

٣- غذاء الإنسان **Human food**

تنمى السيانوبكتيريا فى بيئة معدنية فى وجود الضوء، وتستخدم الكتلة الحيوية الناتجة فى غذاء الإنسان كبروتين وحيد الخلية ومن أهم الأجناس المستخدمة فى ذلك ***Spirulina*** خاصة النوع ***S. tecuitlatl*** ، والسبيرولينا من أجناس السيانوبكتيريا التى تنمو فى خيوط ، وهى ذات خلايا حلزونية، ولاتكون هتيروسست ، وتتميز بقدرتها على تثبيت نيتروجين الهواء الجوى ، ويحتوى مسحوق السبيرولينا على حوالى ٧٠% بروتين ، وهو يعتبر أعلى محتوى بروتينى لكل الأغذية الطبيعية (المحتوى البروتينى حوالى ٢٠% فى السمك , و٣٥% فى اللبن المجفف وفول الصويا , ٢٥% فى الفول السودانى)، كما أن مسحوق السبيرولينا خالى من الكولسترول وغنى بالفيتامينات والمعادن كالحديد ، علاوة على تميز بروتين السبيرولينا عن بروتين البقوليات فى خلوه من السليلوز الموجود بجدر الخلايا النباتية ، مما يسهل من هضمه . ومن حيث محتوى بروتين السبيرولينا من الأحماض الأمينية ومقدار استفادة الجسم منها فإن بروتين السبيرولينا يلى بروتين البيض واللحوم ويتساوى مع بروتينات البقوليات، ويعتبر بروتين السبيرولينا بحكم مكوناته وخلوه من الكولسترول والسليلوز غذاء ناجحاً لمن يعانون من عسر الهضم أو من متاعب فى امتصاص البروتينات، وفى علاج أنيميا نقص الحديد بالجسم. وتستعمل السبيرولينا بشكل طبيعى فى تغذية الانسان فى بعض البلاد مثل المكسيك بأمريكا اللاتينية، وتشاد بأفريقيا والهند وجنوب شرق أسيا وفى هذه المناطق يقوم الأهالى بجمع السبيرولينا النامية على سطح البحيرات بواسطة شباك دقيقة الفتحات، ثم تجفف السبيرولينا هوائياً أو بالشمس، وتحول الى مخبوزات تسمى فى تشاد بكعك ديها، أو تضاف إلى الأغذية، كما أن السبيرولينا تباع الأن فى بعض الصيدليات فى صورة مسحوق أو أقراص.

٤- غذاء للحيوان Animal fodder

يستخدم بنجاح مسحوق *Spirulina platensis* المجفف هوائياً أو بالشمس أو بالإمرار على اسطوانات ساخنة كمصدر للبروتين يضاف الى العلائق الحيوانية كعلائق الأسماك والدواجن والمجترات.

٥- صبغات غذائية Food pigments

قد تنمى السيانوبكتيريا لاستخراج صبغات من مستخلصاتها تضاف الى الأطعمة لتلوينها بديلاً عن مكسبات اللون الصناعية التى قد تسبب مشاكل صحية للمستهلك، من الصبغات المستخلصة Phycobiliproteins, Phycocyanin and Phycoerythrin ، وتستخلص هذه الصبغات الزرقاء والحمراء ، من أنواع بعض أجناس السيانوبكتيريا مثل *Spirulina* and *Synechococcus* ، وقد بدأ إنتاج هذه الصبغات تجارياً فى بعض البلاد.

٦- إنتاج السيانوفايسين Cyanophycin

السيانوفايسين عبارة عن حبيبات من بوليمرات من الأحماض الأمينية من الأسبارتك وحمض الأرجينين يخزن فى بعض أنواع السيانوبكتيريا التابعة لعائلة Nostocaceae، وأمكن إنتاجه منها من خلال تنمية مثل هذه الأنواع فى مخمرات ضوئية كبيرة الحجم وإستخلاصة بتكسير الخلايا والطرد المركزى، ولقد أمكن نقل جين Cyanophycin synthase الى بكتيريا *E. coli* لإنتاجة فى فترة زمنية أقل وبكمية أكبر من إنتاجة من السيانوبكتيريا لإستخدامة فى الأغراض الطبية.

٧- السيانوبكتيريا وعصر الفضاء Cyanobacteria and space age

يحتاج الإنسان أثناء رحلاته الطويلة بمركبات الفضاء إلى إمداد وافر ومستمر من الهواء والماء والغذاء، وإرسال تلك الاحتياجات من الأرض إلى مركبة الفضاء بشكل منتظم ومستمر عمل شديد الصعوبة وغالى التكلفة، ومن البدائل المتاحة الأن السهلة الإجراء الرخيصة التكلفة هو استخدام الطحالب الدقيقة الخضراء كالكلوريلا ، والسيانوبكتيريا كالسبيرولينا فى عمليات حيوية تتم بداخل مركبة الفضاء وذلك بتنميتها على المواد المتخلفة من الإنسان خلال رحلته الفضائية لتوفير ما يلزم له من أكسجين وماء وغذاء .

ثانيا: البكتيريا المثبتة لأزوت الهواء الجوى التكافلية

Symbiotic nitrogen fixers

يقوم عدد كبير من البكتريا والأكتينوميسيتات وبعض الطحالب الخضراء المزرقة بتثبيت الأزوت الجوي بالاشتراك مع بعض نباتات معراة ومغطاة البذور كما يلي :

١-التكافل بين الريزوبيا والنباتات البقولية

Rhizobium–legume symbiosis

٢-التكافل بين الريزوبيا وغير البقوليات

Rhizobium–non legume symbiosis

٣-التكافل بين الأكتينوميسيتات (الأكتينوبكتيريا) والنباتات غير البقولية

Actinomycetes –non legume symbiosis

كما في الكازوارينا.

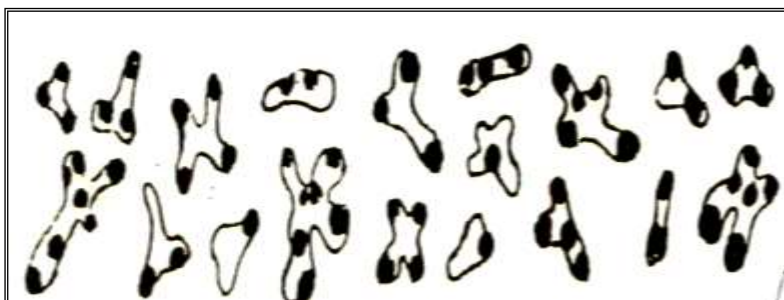
٤-التكافل بين السيانوبكتيريا ومعراة البذور

Cyanobacteria–gymnosperms symbiosis

كما في السيكاس.

الريزوبيا والنباتات البقولية Rhizobia and leguminous plants

تتم عملية تثبيت النيتروجين بواسطة البكتريا العقدية التابعة لجنس *Rhizobium & Bradyrhizobium* داخل العقد الجذرية، حيث تعيش هذه الميكروبات مع النباتات البقولية معيشة تكافلية (تبادل المنفعة)، فالنبات يمد الميكروب بما يحتاجه من المواد العضوية وغير العضوية اللازمة له، بينما تمد الميكروبات النبات بالمواد النيتروجينية من خلال عملية تثبت نيتروجين الهواء الجوي في النبات، والريزوبيا ميكروب عصوى قصير غير متجرثم سالب لجرام، تنمو على بيئة المانيتول ومستخلص الخميرة، وتتميز بأنها في المزارع الحديثة يكون شكلها عصوى وأحيانا كروى بينما في العقد الجذرية أثناء طور التثبيت وهو طور البكتيرويد تأخذ أشكال غير منتظمة (T,Y,V,X) ولايظهر ذلك على البيئات الصناعية. وتتميز أثناء نموها في العقد بإفراز بعض منشطات النمو مثل مشتقات الإندولات والسيتوكينينات والجبريللينات.



شكل٢ (٢) -٨: بكتيرويدات من عقد جذرية لنبات البسلة

تقسيم البكتيريا العقدية حسب سرعة النمو

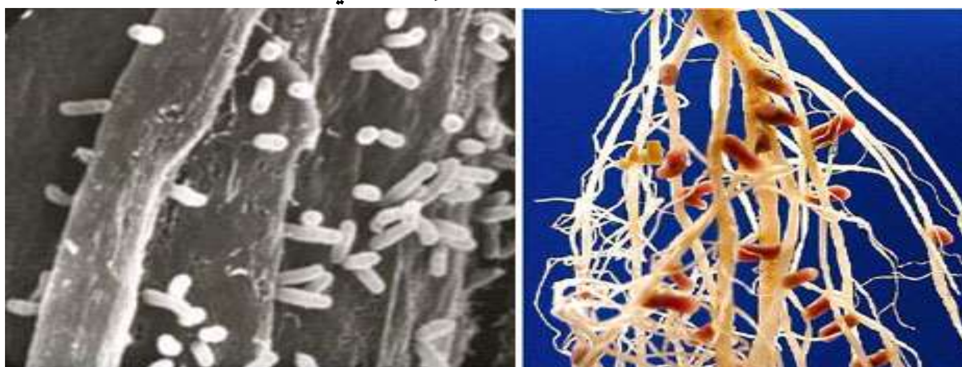
يمكن تقسيم البكتيريا المعزولة علي أساس نموها علي بيئة مستخلص الخميرة والمانيتول إلي:

١- جنس *Rhizobium*

ميكروبات سريعة النمو Fast growing (مثل بكتيريا مجموعة البرسيم الحجازى) ومتوسط عمر الجيل بها حوالى ٤ ساعات، ويصل أقصى نمو بعد ٤٠-٧٠ ساعة وأفراد هذه المجموعة تزيد من حموضة البيئة بعد نموها.

٢- جنس *Bradyrhizobium*

ميكروبات بطيئة النمو Slow growing مثل بكتيريا مجموعة اللوبيا (Cowpea Bradyrhizobia) ومتوسط عمر الجيل بها حوالى ١٠ ساعات من (٦-١٢ ساعة)، ويصل أقصى نمو بعد ١٠٠-١٩٠ ساعة، وهي تزيد من قلوية البيئة بعد النمو بها، وتمتاز أفرادها بأن فلاجلاتها طرفية، وبذلك نلاحظ أن البكتريا العقدية سريعة النمو تختلف عن بطيئة النمو في كثير من الصفات المورفولوجية والمزرعية والفسيولوجية بالإضافة إلي الفروق السيرولوجية.



شكل٢(٢) -٩: جذر نبات بقولي وعليه عقد بكتيرية

التخصص في البكتيريا العقدية Specification of nodulating bacteria

البكتيريا المسببة للعقد الجذرية للنباتات البقولية تشتمل علي أنواعاً عديدة، وتختلف الأنواع حسب نوع النبات العائل الذي يصيبه، فلكل نبات بقولى أو مجموعة من النباتات البقولية نوع يكون العقد عليه أما باقى الأنواع فإنها غير قادرة علي غزو هذا النبات، أو قد يغزوه ولكنها تكون عقداً ضعيفة غير قادرة علي غزو هذا النبات، أو قد يغزوه ولكنها تكون عقدًا ضعيفة غير قادرة علي تثبيت النيتروجين، وتسمي مجموعة النباتات البقولية التي يغزوها نوع واحد من البكتريا العقدية باسم مجموعة تبادلية التلقيح، فمثلا هناك مجموعة البسلة تضم البسلة والفول العادى والعدس، والنوع المكون للعقد البكتيرية علي هذه المجموعة هو *Rh . leguminosarum* ، وبالمثل هناك مجموعة البرسيم الحجازي ويغزوها ميكروب *Rh. meliloti* ومجموعة البرسيم العادى ويغزوها *Rh. trifolii*، حيث قسمت النباتات البقولية إلي سبع مجموعات وبالتالى قسمت البكتيريا العقدية إلي سبع أنواع ، وبالرغم من أن النوع الواحد من البكتيريا العقدية يغزو جميع أنواع النباتات البقولية التابعة لمجموعته التبادلية، إلا أن هناك سلالات بكتيرية تكون أكفأ في تكوين العقد وتثبيت النيتروجين علي نبات معين في داخل المجموعة من النباتات الأخرى، وحتى النوع الواحد من النباتات البقولية قد يغزوه عدة سلالات تختلف في كفاءتها في تثبيت النيتروجين فبعضها ذو كفاءة عالية وبعضها متوسط.

ولقد قسمت بكتيريا الريزوبيا حديثاً إلي أربعة أجناس كمايلى:

Genus I : ***Rhizobium***

Rhizobium leguminosarum **biovar** ***trifolii***

Rhizobium leguminosarum **biovar** ***phasoli***

Rhizobium leguminosarum **biovar** ***viceae***

Rhizobium meliloti , Rhizobium loti

Genus II ***: Bradyrhizobium***

Bradyrhizobium japonicum , Bradyrhizobium lupini

Genus III: ***Azorhizobium***

Azorhizobium caulinodans

Genus IV: ***Sinorhizobium***

Sinorhizobium fredii , Sinorhizobium xinjiangnsi

جدول (٢-٢-١): المجموعات النباتية وأنواع البكتيريا المتخصصة في إصابتها.

اسم المجموعة		نوع البكتيريا	النباتات التي تضمها المجموعة
أ) سريعة النمو			
مجموعة البرسيم الحجازى	Alfalfa group	*Rh. meliloti*	-البرسيم الحجازى ، الحلبة ، النفل ،
مجموعة البرسيم	Clover group	*Rh. trifolii*	-البرسيم المصري،
مجموعة البسلة	Pea group	*Rh. leguminosarum*	-البسلة ، بسلة
مجموعة الفاصوليا	Bean group	*Rh. phaseoli*	- الفاصوليا
ب) بطيئة النمو			
مجموعة الترمس	Lupine group	*Br. lupine*	الترمس
مجموعة فول الصويا	Soybean group	*Br. japonicum*	فول الصويا
مجموعة اللوبيا	Cowpea group	*Bradyrhizobium* sp.	اللوبيا ، فول السوداني ، فاصلوليا

مراحل تكوين العقدة البكتيرية Stages of nodule formation

تبدأ عملية تكوين العقدة البكتيرية بعد إنبات البذرة مباشرة، حيث تفرز جذور النبات إفرازات تشجع نمو الميكروبات حوله وتشجع البكتريا العقدية الموجودة في التربة حول الجذور وتتكاثر حوله، فإذا كانت من النوع المتخصص لهذا النبات فإنها تلتصق بالجذور، ولقد أثبتت الدراسات أن البكتيريا العقدية يوجد علي سطحها نوع من السكريات المعقدة متخصصة لنوع النبات البقولى الذي تغزوه، فإذا كانت البكتيريا العقدية من النوع المتخصص للنبات المزروع فإنها تلتصق به بواسطة السكريات المعقدة المتخصصة، أما إذا لم يكن من النوع المتخصص للمجموعة النباتية التي يتبعها النبات المزروع فإن الالتصاق لا يتم أو يكون ضعيفاً وبعد الالتصاق تبدأ عملية الغزو.

ويوجد عدة أراء عديدة تفسر الأسباب التي تساعد الميكروب المتخصص علي غزو جذور النبات العائل ومن هذه الأراء:

١- يساعد على انحناء الشعيرة الجذرية وغزو طرفها بالبكتريا المتخصصة ما تفرزه بذور النبات العائل أثناء نموها في حالات كثيرة من مواد تسمي ليكتينات Lectins ، وهي عبارة عن مواد بروتينية ذات قابلية متخصصة للارتباط بالسكريات المعقدة الموجودة علي سطوح البكتيريا العقدية، وفي حالة البكتريا العقدية فإنه يحدث تجاذب بين السكريات التي علي سطحها وبين الليكتينات المنتشرة علي سطوح جذور النبات البقولى (أو الشعيرة الجذرية)، وبذلك تلتصق البكتيريا بجذر عائلها المتخصص له دون غيره. وعلي هذا فإن ليكتين البرسيم العادى والمسمى Trifoliin متخصص للاتحاد مع الريزوبيا *Rh.trifolii* ولصقها بجذور البرسيم، ويهمنا أن نوضح أن السكريات التي تفرزها الريزوبيا متعددة منها سكريات العلبة Capsular polysaccharides وأهم مكوناتها الجلوكوز والجلاكتوز والفراكتوز والمانوز وأحماض الجلكورونيك والجلاكتورونيك، ومنها سكريات ليبيدية تحتوى علي سكريات وأحماض نووية متحدة مع ليبيدات وتتميز باحتوائها علي Uronic acid, Rhamnose, deoxyhexose, Methylated hexose amine, Ethylated heptose ، بالإضافة إلي ما تفرزه خلية الريزوبيا من وحدات ذات أوزان جزيئية صغيرة من الجلوكان.

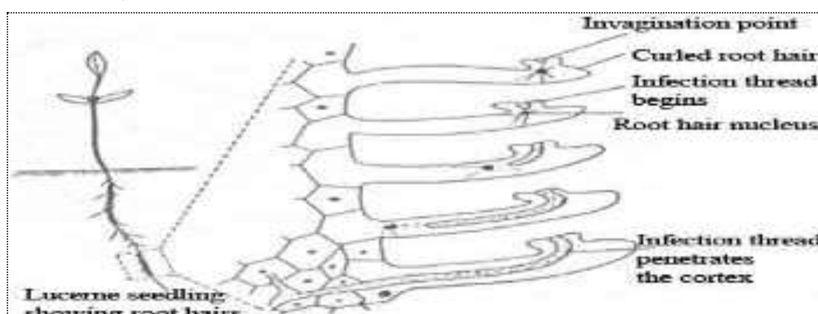
٢- ومما يساعد أيضا علي غزو الميكروب المتخصص للعائل، ما تفرزه جذور العائل من إنزيم Polygalacturonase، ويفرز هذا الإنزيم في رأى بعض الباحثين نتيجة لحث البكتيريا المتخصصة المهاجمة بما تحويه من سكريات معقدة في جدارها الخارجي.

٣- ويساعد أيضا في عملية الغزو، ما تفرزه القمة النامية لطرف الشعيرة الجذرية عند مكان الإصابة من مادة سكرية تسمي كالوز Callose وهي $\beta-1,3$ glucan هذه المادة تفرزها جذور النباتات الحديثة النمو بتأثير البكتريا العقدية المتخصصة بما تفرزه من مادة الإندول أسيتيك أسيد، وهذه المادة (الكالوز) تختفي في الجذور المسنة، ويمكن تقسيم الأطوار التي توجد بها البكتيريا العقدية في النبات إلي ثلاثة كالأتي:

الطور الأول Controlled parasite

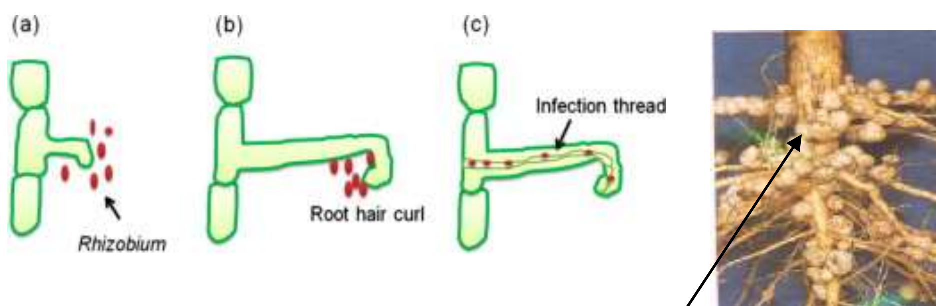
غزو الميكروب للجذور: يبدأ تكوين العقدة مع تكوين الأوراق الأولى للنبات، وقد دلت الأبحاث علي أنه في هذا الوقت تفرز جذور النبات مواد تعمل علي تكاثر البكتيريا المحيطة بها، وبذلك يتكون بالقرب من الشعيرة الجذرية مجموعة كبيرة من بكتيريا العقد الجذرية، حيث تفرز بدورها مادة منشطة للنمو (مثل أندول حمض الخليك الذي تمثله البكتيريا بالأكسدة من مادة

التربتوفان المفرزة من الجذور)، وهذه تسبب نمو الشعيرة الجذرية والتوائها، فتغزوا هذه الميكروبات طرف الشعيرات الجذرية من منطقة الانحناء لأنها أضعف نقطة في الشعيرة.



شكل٢(٢) – ١٠: انتشار خيط العدوى في خلايا الجذر

وقد وجد أنه إذا كان الميكروب هو من نفس النوع الذي يصيب النبات فإنه يحدث هذا الانحناء ويكون العقدة، أما إذا كان من نوع أخر فإنه يحدث الانحناء فقط ولا يكون العقدة، بمعني أن الميكروب المختص بإصابة جذور الفول مثلا يحدث الانحناء والعقدة في نبات الفول فقط، ولكنه يحدث الانحناء فقط في نبات البرسيم، ثم يبدأ في تكوين (خيط العدوى) Infection thread بعد الإصابة، وهو مكون من البكتيريا محاطة بأنبوبة مكونة من السيليولوز وهيميسيليولوز وبكتين وهذه الأنبوبة يكونها النبات المصاب. يستمر خيط العدوى في نموه بمتوسط سرعة حوالى ٧ ميكرومتر/ساعة، وهو معدل يعادل سرعة نمو الشعيرة الجذرية نفسها. ويختلف خيط العدوي في السمك باختلاف النبات العائل، ولكنه يزداد دقة كلما كان الجذر رفيعا، ويستمر في النمو مستقيماً وينحني فقط ليتبع انحناء جدار الشعيرة الجذرية. وفي المعتاد يتكون خيط عدوى واحد داخل الشعيرة الجذرية، ولكن قد يتكون أحياناً خيطين ونادرًا ما يتكون ثلاثة خيوط.



شكل٢ (٢) – ١١: مراحل غزو الريزوبيا لجذر النبات

ويستمر خيط العدوي في النمو في الشعيرة الجذرية حتى يصل إلي خلايا القشرة للجذر فيخترقها، ثم يتفرع خيط العدوي ويغزو خلايا أخرى ويختفي الخيط وتتجمع خلايا البكتيريا حول أنوية خلايا قشرة الجذر، تنشط الخلايا المصابة وتنقسم حاملة خلايا البكتيريا الجديدة، وتتكون العقدة من الانقسام الغزير لخلايا النبات ومن تضخم هذه الخلايا أيضاً، كما أن خلايا النبات المجاورة للخلايا المصابة ينتابها كبر في الحجم ونشاط في الانقسام أيضاً. ويعلل انقسام الخلايا المجاورة المذكورة إلي أن خلايا البكتيريا أيضا تفرز هرمون Heteroauxin ينتشر إليها فيسبب هذا النشاط ويؤيد ذلك أن العقدة وجدت غنية بهذا الهرمون، ويلاحظ بأنه إذا ما دخلت إحدى سلالات الريزوبيا إلي داخل النبات فأنها تمنع دخول السلالات الأخرى.

وتتكون العقدة عادة من خلايا القشرة بالجذر كما في معظم النباتات مثل البسلة والبرسيم الحجازى والفول، غير أنه في بعض النباتات الأخرى مثل الفول السوداني يصل خيط العدوي مخترقا القشرة إلي البريسيكل والذي تتكون العقدة من انقسام خلاياه ويتم تكوين العقدة علي الجذر في مدة لا تقل عن ١٥ يوماً من بدء الإصابة، وعندما تتكون العقدة تظهر الحزم الوعائية في المحيط الخارجي للعقدة التي تتصل بالحزم الوعائية الأصلية للجذر، وخلال هذه الأوعية تنتقل المواد العضوية وغير العضوية إلي العقدة، كذا تنتقل منها المواد التالفة الناتجة من تمثيل الميكروبات للأغذية وأيضا ينتقل خلالها النيتروجين الممثل في العقدة إلي النبات.

ويلاحظ أن نصف العقدة يوجد به الميكروبات، أما النصف الأخر يكون خالي منها ويسمي النصف العقيم، وشكل الميكروبات في العقدة الحديثة السن تقريبا عصوي، ولكن في العقدة الناضجة توجد البكتيريا علي هيئة حروف مثل T, L, Y, X, V وغيرها، ويسمي هذا الطور Bacteroids، وعند صبغها وفحصها ميكروسكوبيا يشاهد أنها لا تصبغ بانتظام إذ يلاحظ وجود مناطق بيضاء خالية من الصبغة ولقد وجد أنها تتكون من Poly β- hydroxybutyrate.

وتتم عملية تثبيت النيتروجين الجوي في طور البكتيرويد لأن الخلايا البكتيرية في هذا الطور تحتوى علي الإنزيم المثبت للنيتروجين وهو إنزيم النيتروجينيز. وشكل وحجم العقدة يختلف باختلاف العائل والوسط وطريقة أدائها لوظيفتها، وعموما فمن حيث الشكل فإنه يوجد شكلين للعقدة، الكروية كما في نبات Desmodium والمستطيلة كالموجودة في نبات البرسيم، وهي عقدة لها قمة نامية تستطيل طوليا وقد يحدث لها تفرعات جانبية.

الطور الثاني: تبادل المنفعة Symbiosis

وفيه تظهر المعيشة التكافلية أو معيشة "تبادل المنفعة" **Symbiosis** حيث تمد البكتيريا النبات بالمواد النيتروجينية المثبتة، ويمد النباتات البكتيريا بالمواد الكربوهيدراتية، وتمكث البكتيريا داخل العقدة الجذرية في طور **Bacteroids** مدة سبع أسابيع تقريبا، وتحول الريزوبيا إلي طور البكتيرويد يكون مصحوبا بتكون مادة شبيهة بالهيموجلوبين بالعقدة وتسمي **Leghaemoglobin**، بينما تتحكم جينات الريزوبيا في تكوين النظام الخاص بتثبيت النيتروجين.

وإذا كانت الميكروبات غير متخصصة لنوع النبات، فإن العقدة تمكث ٧ – ١٠ أيام ولا يتكون في هذه الحالة اللجهيموجلوبين **Leghemoglobin**، وربما يشاهد نوعي العقد المذكورين علي النبات الواحد، وتسمي العقدة المتكونة من سلالة غير متخصصة أو غير فعالة بالعقدة الكاذبة وقد تتكون أحياناً عقد ضعيفة هزيلة ولكنها صادقة ويرجع ذلك إلي:

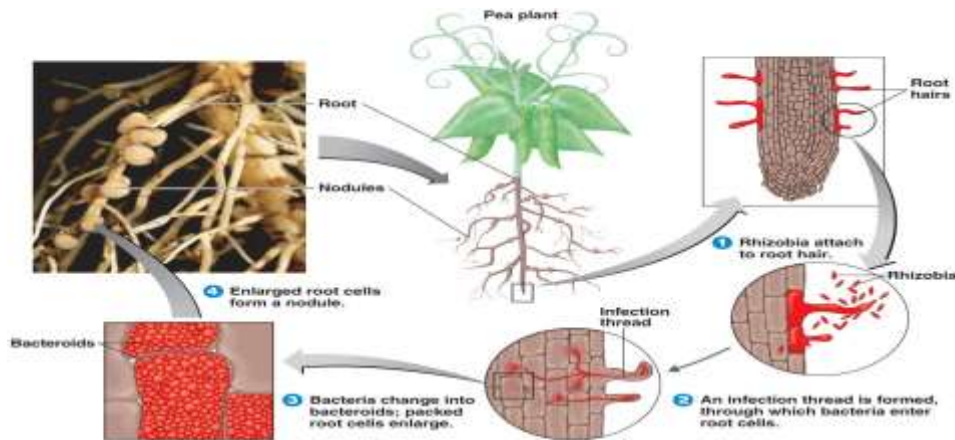
١–كثرة النترات في التربة: حيث يتكون نموا خضريا كبيرا وتتجه كل الكربوهيدرات الناتجة عن التمثيل الكربوني للنبات إلي تكوين النمو الخضري بدلا من أن تصل للبكتريا لإمدادها بالطاقة اللازمة.

٢–عدم وجود إضاءة كافية الأمر الذي يسبب قلة ورود الكربوهيدرات إلي العقد الجذرية نتيجة لضعف التمثيل الكربوني.

٣–عدم وجود كمية كافية من المعادن النادرة الضرورية لعملية التثبيت مثل البورون والموليبدنم.

الطور الثالث Uncontrolled parasite

بعد حوالى سبعة أسابيع من تكوين العقدة البكتيرية يتحول الميكروب من معيشة تبادل المنفعة إلي متطفل بعد أن تقل المواد الغذائية الواصلة إلي العقدة، فيفرز الميكروب إنزيم البكتينيز **Pectinase** الذي يذيب الصفيحة الوسطى للخلايا البرانشيمية التي يسكن فيها وتتفجر العقدة بعد ذلك، ويخرج الميكروب إلي التربة الزراعية، وفي رأى أخر أنه في وقت الإزهار أو بعده بقليل تصل درجة تركيز هرمون الأوكسين **Auxin** إلي قمته، وعندئذ تتحلل العقدة ويصبح لونها أخضر أو بنى وتختفي البكتيرويدات **Bacteroids** ثم تنفصل بقايا العقدة بطبقة من الفلين بعدها تتأكل وتتحلل.



شكل٢(٢) –١٢: مراحل تكوين العقد الجذرية فى نبات بقولى نتيجة العدوى بالرايزوبيا المتخصصة

أهمية العقد الجذرية

تقوم بكتيريا العقد الجذرية بتثبيت نيتروجين الهواء الجوي وهي مهمة للنباتات منذ بدأ حياتها إلي قرب حصادها. حيث أنها تمد النبات بما يحتاجه من نيتروجين فتعطي النباتات بالتالى غلة كبيرة بدون تسميد نيتروجيني، وكذا تمد التربة بكمية كبيرة من النيتروجين، والبكتيريا لا يمكنها تثبيت النيتروجين بمفردها ولكن لابد من وجود النبات للقيام بعملية تثبيت الأزوت. وبالنسبة لوجود هذه البكتيريا في العقد علي جذور النباتات البقولية نجد أن هذه النباتات غنية بالنيتروجين، فمثلا نرى أن ١ طن دريس من البرسيم الحجازى يحتوى علي ١٣٠–١٥٥ كجم بروتين، بينما ١ طن من الحشائش أو تبن شعير أو قمح يحتوي علي ٥٠–٦٥ كجم بروتين ويتضح مما تقدم أن البقوليات غنية بالبروتينات. أيضاً مقدار ما يثبت من نيتروجين الهواء الجوي بالنسبة لهذه النباتات يختلف باختلاف نوع النبات، فنجد أن محاصيل المراعي مثل البرسيم الحجازي تثبت كمية من النيتروجين فوق كثيرا ما تثبته محاصيل البذور مثل الفول والبسلة وفول الصويا، أما مقدار ما تستفيده التربة من النيتروجين المثبت بواسطة النباتات البقولية فإنه يختلف باختلاف طريقة الحصاد، فإذا حرث المحصول في الأرض كسماد أخضر فإن التربة تستفيد من كل النيتروجين المثبتة، أما إذا أكلته الحيوانات أو حول إلى سيلاج وأكلته الحيوانات فإن السماد الناتج من هذه الحيوانات لو أضيف كله للتربة فإن نسبة النيتروجين المثبت التي تصل إلى التربة تكون٥٠٪ أو أكثر قليلا، أما إذا أزيل المحصول بعيدا عن التربة فإن مقدار ما يصل إلى التربة من النيتروجين المثبت يكون بمقدار ما يتبقى من محصول في التربة. وإذا كان المجموع الجذرى كبير ومكث في الأرض بعد الحصاد فإن ما يتبقى منه بعد الحصاد قد يساوى ثلث ما يحتويه النبات من النيتروجين المثبت.

التلقيح بالبكتيريا العقدية Inoculation by noulating bacteria

قد تلقح التربة بالميكروبات النافعة، ولكي تتكاثر تلك الميكروبات الملقحة لابد من توافر العوامل المناسبة لنموها، وقد ثبت أن تلقيح التربة ببكتريا العقد الجذرية للنباتات البقولية هام جدا، خصوصا في الأراضي المستصلحة حديثاً التي لم تزرع بعد بالنباتات البقولية، أو عند إدخال صنف جديد من النباتات البقولية التي لم يسبق زراعتها بعد مثل فول الصويا، أو حتي في الأراضي القديمة التي حدث تدهور في محتواها من البكتريا العقدية. وتوجد عدة طرق لتلقيح النباتات البقولية بواسطة البكتريا العقدية منها:

١) استعمال التربة Using of soil

وفي هذه الطريقة ينقل جزء من التربة من الطبقة السطحية (٢٥-٢٠سم) من حقل سبق زراعته بنجاح بنفس المحصول البقولي المراد زراعته، وتكفي كمية ٢٠٠كجم تربة لتلقيح فدان واحد تنثر هذه الكمية علي سطح الحقل وتخلط جيدا بالتربة قبل زراعة البذور، ولهذه الطريقة عدة عيوب منها عدم التأكد من معرفة ما إذا كانت التربة تحتوي علي العدد الكافي من البكتيريا لتكوين العقد الجذرية، كما قد تحتوي تلك التربة علي بذور حشائش ضارة كالهالوك أو علي أفات وميكروبات مرضية لذلك فان هذه الطريقة قلما تستعمل الأن.

٢) استعمال المزارع البكتيرية Using of bacterial cultures

وفي هذه الطريقة تخلط البذور قبل زراعتها مباشرة بمزرعة نقية من بكتيريا العقد الجذرية، وقد تكون هذه المزارع سائلة أو علي أجار أو علي مادة حاملة والنوع الأخير هو الشائع الاستعمال.

تبدأ الخطوات الأولي باختبار السلالة الفعالة من الريزوبيا للنبات العائل التي تتحمل ظروف التخزين ودرجات الحرارة العالية ثم تنمي البكتريا في مزرعة سائلة مناسبة وتترك لتنمو علي درجة ٢٥°م، بالنسبة للبيئة الغذائية فإن الريزوبيا ذات احتياجات غذائية عادية ويمكن أن تزرع في مزارع مهتزة أو في أوعية زجاجية بهواء معقم أو في مخمرات مناسبة علي أن تزود بفتحات لإضافة اللقاح وأخذ العينات، مصدر الكربون المناسب هو السكروز والمانيتول والجليسرول والأرابينوز، وإن كانت الريزوبيا بطيئة النمو لا تمثل السكروز، وتستعمل مستخلصات الخميرة عادة كمصدر للنيتروجين وعوامل النمو.

٣-مزارع البكتيريا علي مادة حاملة Bacterial cultures on carrier

تلقح البكتيريا كما ذكرنا علي بيئة سائلة مناسبة مثل بيئة مستخلص التربة، ثم تترك لتنمو علي درجة ٢٥°م حتي إذا ما بلغ النمو أقصاه (٥ أيام) للسريعة النمو و(٧ أيام) للبطيئة النمو، يضاف السائل المحتوي علي البكتيريا إلي مادة حاملة مثل السماد العضوي الصناعي

Compost المعقم أو الدبال أو خليط من التربة والفحم ويخلط جيدا علي أن تكون درجة الرطوبة النهائية من ٤٠-٥٠٪ ثم يعبأ المخلوط في أكياس سيلوفان أو علب صفيح محكمة القفل ثم توزع بالأسواق، وتستطيع بعض النباتات غير البقولية أن تعيش معيشة تكافلية مع بعض أنواع من الكائنات الحية الدقيقة وتكون عقدا جذرية مثلما يحدث بين الريزوبيا والبقوليات ومن أهم هذه النباتات أشجار الكازوارنيا التي تثبت الأزوت تكافليا بالاشتراك مع أنواع جنس الفرانكيا *Frankia* والتي تتبع الأكتينوبكتيريا.

الفرانكيا وتثبيت الأزوت تكافليا ***Frankia* and nitrogen fixation**

في السنوات الأخيرة زاد الاهتمام بالمعيشة التكافلية بين الفرانكيا والنباتات غير البقولية المثبتة لأزوت الهواء الجوي والمسماه بالـ **Actinorhizal plants** (يتكون هذا التعبير من مقطعين الأول **Actino** من الأكتينوبكتيريا والثاني **rhizal** من جذور النباتات المتعاونة) والـ **Actinorhizal plants** تشمل ٢٤ جنساً نباتياً تتبع ٨ عائلات ، هذه العوائل النباتية مختلفة في صفاتها ولا تشترك معا إلا في معيشتها التكافلية مع ميكروب الفرانكيا، وهي منتشرة تقريبا في كل مكان في العالم والعديد من أنواعها يمكن تمييزها بمعيشتها في المناطق الفقيرة غذائيا في شمال وجنوب المناطق المعتدلة. ومن أكثر أجناس الـ **Actinorhizal plants** انتشارا هى *Alnus, Elaeagnus, Myrica, Casuraina*. وأدت القدرة العالية للعديد من أنواع الـ **Actinorhizal plants** علي النمو بسرعة في الأراضى الفقيرة إلي انتشارها بسرعة واستخدامها في الغابات واستصلاح الأراضى وتثبيت الكثبان الرملية .والعقد الجذرية للـ **Actinorhizal plants** عبارة عن تجمعات من الجذور الجانبية الصغيرة المحتوية علي النسيج الوعائى المركزي, وتتكون العقد من فصوص كل فص يتكون من أوعية مركزية محاطة بخلايا القشرة المحتوية علي الفرانكيا علي عكس العقد الجذرية للبقوليات التي تكون علي شكل ورم في الأنسجة الوعائية الخارجية للخلايا المصابة ، الفرانكيا الموجودة داخل العقد الجذرية للـ **Actinorhizal plants** وهي عبارة عن خيوط محاطة بأغشية خلوية لخلايا العائل بالإضافة إلي مواد شبيهة بالجدار الخلوي. علي عكس العقد الجذرية في النباتات البقولية فالريزوبيا تكون عبارة عن خلايا فردية ذات أشكال مميزة.

- جنس الفرانكيا *Frankia*

في النصف الثاني من القرن التاسع عشر وصفت الكائنات الحية الدقيقة الموجودة داخل العقد الجذرية للـ **Actinorhizal plant** على أنها فطريات لكن اتضح بعد ذلك أنها تتبع الـ **Actionmycetes** وهي بطيئة النمو وتنقسم في أكثر من اتجاه واحد. تم في مصر لأول مرة

عزل سلالات الفرانكيا الفعالة من أشجار الكازوارينا في وحدة التسميد الحيوي بكلية الزراعة جامعة عين شمس عام ١٩٩٠م ، ومما هو جدير بالذكر أنه قد تم عزل الفرانكيا من التربة مباشرة باستخدام طريقة Sucrose fractionation ومازالت الدراسات والبحوث العلمية المكثفة في مختلف دول العالم تتزايد لمعرفة المعلومات التفصيلية لوضع ميكروب الفرانكيا في الشجرة الوراثية للأحياء الدقيقة والصعوبات الناجمة عن تأخير عزل سلالات الفرانكيا ترجع أساسا لبطئ معدل نموها وعدم معرفة احتياجاتها الغذائية.



شكل٢ (٢)-١٣ : عقد جذرية للـ ***Frankia*** علي جذر العائل



شكل٢ (٢) -١٤: خيوط الفرانكيا وعليها الحويصلات

- الأزولا ***Azolla***

الأزولا نوع من السرخسيات المائية Water ferns التي تمثل علاقة تعاون وثيقة بين النبات والسيانوبكتيريا من جنس ***Anabaena*** من حيث تبادل نواتج التمثيل الغذائى من كربوهيدرات ونيتروجين، فكل من النبات والبكتريا يكونان وحدة واحدة ويتم تثبيت النيتروجين خلال المعيشة التكافلية.

والأزولا تتبع Phylum pteridophyta, Order Salviniales, Family Azolaceae وهذه العائلة تكون جراثيم من نوع Heterospores free floating وجنس الأزولا ***Azolla*** يقسم حسب طريقة التكاثر إلي ستة أنواع هي ***Azolla caroliniana, A. filiculoides, A. mexicana***، والأنواع الثلاث هذه أكثر انتشارا في أوروبا وأمريكا، أما الأنواع الثلاثة التالية ***A. microphylla, A. pinnata, A. nilotica*** فتكثر في المناطق

الاستوائية وشبه الاستوائية وجنوب شرق أسيا، والنوع الأخير *A. nilotica* يوجد بكثرة في أعالى النيل والسودان.



شكل٢ (٢) –١٥: يبين شكل سرخس الأزولا والأنواع المختلفة منها

ولقد بدأت في مصر منذ عام ١٩٧٧م دراسات علي تأثير التلقيح بنبات الأزولا علي نمو الأرز باستخدام سلالات تم استيرادها من الخارج، ولقد أظهرت التجارب أن النوعين *A. filiculoides,* *A. caroliniana* أكثر الأنواع تجاوبا مع ظروف الأراضى المصرية. الأزولا نبات واسع الانتشار فهي توجد في البحيرات والترع وفي الحقول المغمورة بالمياه Paddy soils في كل جهات العالم خاصة في المناطق الاستوائية التي يتكاثر فيها بسرعة عائما علي سطح البحيرات والمستنقعات، فهو من النباتات المائية الطافية المكونة من ريزوم متفرع بالتبادل، ذو أوراق مفصصة تفصيص ثنائى رأسى، وللسرخس جذور رقيقة تتدلى في الماء بطول ٢سم في الأنواع الصغيرة أو تصل بطول ١٠ سم في الأنواع الكبيرة. و تتكاثر الأزولا خضريا أو جنسيا بتكوين جراثيم من اتحاد الجاميطات المذكرة والمؤنثة. ويمكن أن تتواجد تلك السرخسيات في المناطق الشمالية والقطبية، ولكن معدل تثبيتها للنيتروجين سيكون محدودا لأن الحرارة المنخفضة تحد من عملية التثبيت.

والظروف المناسبة لنمو الأزولا هي توفر بيئة مائية لا يقل عمق الماء بها عدة سنتيمترات، ودرجة حرارة بين ٢٠–٢٨°م، وتوفر أملاح الفوسفات والبوتاسيوم والحديد وتركيز أيون الأيدروجين في الوسط من ٦–٧، وارتفاع الرقم الهيدروجيني عن ٧ يسبب صعوبة الأزولا في امتصاص العناصر الغذائية ويعالج ذلك بإضافة العناصر الغذائية المطلوبة في صورة سماد. ويعتبر النوع *Azolla pinnata* من الأنواع التي تتحمل الحرارة العالية والفوسفور اللازم لها في الماء في حدود ٠.٠٣ جزء في المليون. وتموت السيانوبكتريا عند درجة حرارة اقل من ٥°م أو أكثر من ٤٥°م كما أن ارتفاع الرطوبة النسبية يحد من نموه. ويمكن تنمية الأزولا بنجاح في مشاتل مائية بتوفير الظروف المناسبة واستعمالها كلقاح في الأراضى المزروعة ، حيث يقوم

المتعايش الداخلى Endophyte symbiont وهو *Anabaena* بتثبيت النيتروجين الذي تستفيد منه النباتات المنزرعة وبذلك يوفر من عمليات التسميد الأزوتي.

ومن العوامل المحددة لانتشار الأزولا نسبة الملوحة بالوسط النامية به فنمو الأزولا يقل تدريجيا كلما زادت نسبة الملوحة فإذا وصلت النسبة إلي ١.٣-١.٥٪ فإن النمو يقف وإذا ما زادت النسبة عن ذلك فإن النبات يموت وعلي ذلك فإن نسبة الملوحة يجب أن تؤخذ في الاعتبار إذا ما أريد تنمية الأزولا بنجاح.

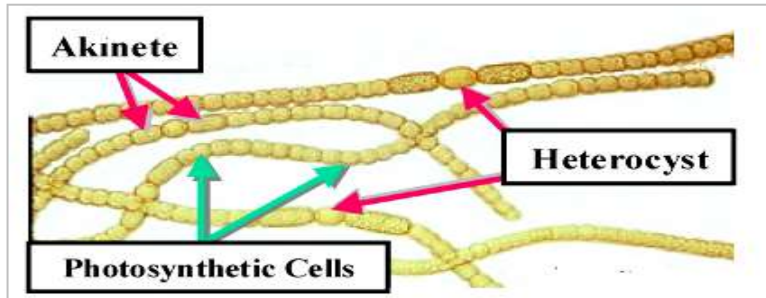
ومن حيث التمثيل الضوئى فإن الأزولا تحتوي علي كلوروفيل أ ، ب والنظام الضوئى ١ ، ٢ أما *Anabaena* المتعاون مع الأزولا فإنه يحتوي علي كلوروفيل أ أو النظام الضوئى رقم ١ ، كما أنه يحتوي علي الصبغة الزرقاء المميزة لتلك السيانوبكتيريا وهي صبغة الـ Phycocyanin أما عن صبغة الأنثوسيانين الحمراء الموجودة بالأزولا فإنها تمتص جزءا من الضوء الذي يتعرض له النبات، وتحوله إلي حرارة، وبذلك تحمي جهاز التمثيل الضوئى الموجود بالنبات من الضرر الناتج عند التعرض لتركيزات عالية من الضوء، و *Anabaena azolla* الذي يوجد داخل نبات الأزولا هو سلالة متخصصة لهذا النبات. والبكتيريا الزرقاء يعيش داخل نبات الأزولا في شكل خيوط لزجة تملأ فجوات خاصة توجد علي سطح الفص السفلي لورقة الأزولا، وخيط البكتيريا الزرقاء يتكون من خلايا برميلية الشكل وقطرها حوالى ٥ µm ويمكن تمييز ثلاث أنواع من الخلايا علي البكتيريا الزرقاء:

١- خلايا خضرية وهي مراكز التمثيل الضوئى وتمثل حوالى ٦٠٪ من الخيط.

٢- خلايا Heterocyst وهي مراكز تثبيت الأزوت وتمثل حوالى ٣٠٪ من الخيط.

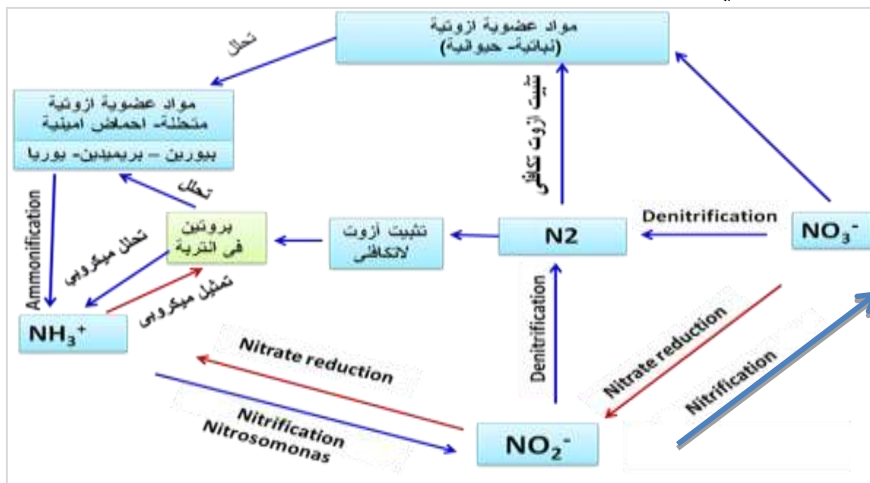
٣- خلايا Akinetes وهي خلايا ذات جدر سميكة تمثل مرحلة الجراثيم الساكنة Resting spores وتتكون من الخلايا الخضرية، وتمثل حوالى ١٠٪ من الخيط ، وتتكاثر البكتيريا الزرقاء بهذه الجراثيم أو بواسطة خيوط قصيرة تسمي Hormogonia تنبت من جراثيم Akinetes . ولأغراض الدراسة فإنه يمكن الحصول علي البكتيريا الزرقاء خاليا من الازولا المتعايشة معه باستعمال الأشعة فوق البنفسجية أو بالمعاملة الحرارية عند درجة ٤٧°م لمدة ١٠٠دقيقة، كما يمكن الحصول علي الأزولا الخالية من البكتيريا الزرقاء بتنمية الأزولا تحت ظروف بيئية قاسية من حيث البرودة، نقص الإضاءة، نقص العناصر الغذائية أو باستعمال المضادات الحيوية مثل البنسلين والإستربتوميسين، ويمتاز *Anabaena* وهو داخل النبات عن الخلايا المشابهة الموجودة في الحالة الحرة بارتفاع نسبة محتواه من خلايا Heterocysts والتي تصل نسبتها إلي حوالى ٣٠-٤٠٪ ، وبالتالى ارتفاع معدله في التثبيت النيتروجيني بشكل ملحوظ، وبذلك فإن *Anabaena* المتخصصة تعتبر ذو كفاءة عالية في

عملية التثبيت الأزوتي التي وجد أنها تصل في المتوسط إلي ٢٥٠ كجم نيتروجين للفدان خلال ٤ شهور في موسم الزراعة، وهي كمية تعادل نصف طن يوريا أو ١.٢٥ طن من سماد سلفات النشادر،



شكل٢(٢) –١٦: موضع خلايا الهيتيروسيست في خيط البكتيريا الزرقاء

وفوائد استعمال الأزولا في الأراضى المنزرعة معروفة منذ قرون طويلة في مناطق شرق وجنوب آسيا مثل اليابان والصين والفلبين وفيتنام كسماد أخضر وكمصدر أزوتي، حيث أنه بتلقيح الأراضى المغمورة بالماء والمنزرعة بالأزولا فإن تلك السرخسيات تنمو بسرعة مكونة طبقة نمو كثيفة علي سطح الماء وتثبت في أجسامها كميات كبيرة من النيتروجين، وعند تجفيف التربة تجف تلك الطبقة من الأزولا وتموت وتتحلل وتغذى التربة بمخلفاتها الكربونية والأزوتية فتحسن من خواصها وتزيد من إنتاجيتها، ونظرا لأن نباتات الأزولا غنية في البروتين والمعادن، فإنه علاوة علي استخدامها كسماد حيوي، فإنها تستعمل أيضا كغذاء للحيوانات والطيور وفي عمل السماد العضوي الصناعي **Compost** بالمزارع.



شكل٢ (٢) –١٧: دورة النيتروجين فى الطبيعة

(الباب الثانى-الفصل الثالث)

دور الكائنات الحية الدقيقة في تحولات الفوسفور في التربة

Role of microorganisms in phosphorus transformation in soil

يوجد الفوسفور في التربة الزراعية في عديد من الصور منها العضوى والمعدنى، ويصل الفوسفور إلي التربة عن طريق تسميد التربة بالأسمدة العضوية أو من بقايا النباتات Plant residues مثل الجذور والأوراق المتساقطة وكذلك يصل الفوسفور إلي التربة عن طريق إضافة الأسمدة الفوسفاتية مثل سماد السوبر فوسفات. والحالات التي يظهر فيها أعراض نقص الفوسفور علي النباتات لا ترجع إلي نقص كمية الفوسفور الكلية في التربة ولكن أعراض النقص سببها قلة نسبة الفوسفور الميسر القابل للامتصاص بواسطة النباتات.

صور الفوسفات في التربة Phosphate forms in soil

١-الفوسفور العضوى Organic phosphorus

يوجد في بقايا النباتات والحيوانات وكذلك بقايا ميكروبات التربة وتتراوح نسبة الفوسفور العضوى في المواد العضوية بالتربة من ٢٠ -٣٥٪ من كمية الفوسفور الكلى الموجود بالتربة، ومن أهم المواد الفوسفورية العضوية بالتربة الأحماض النووية والفيتين.

٢-الفوسفور المعدنى Inorganic phosphorus

وهذه الصورة تنقسم إلي:

أ) فوسفات معدنية غير قابلة للذوبان مثل الفوسفات الصخرى وغيره من مركبات الفوسفور حيث توجد هذه المركبات في الصخور التي تكونت منها التربة الزراعية. وفي كثير من الحالات يوجد الفوسفور في صورة فلورأباتيت ($3Ca_3(PO_4)_2-CaF_2$) ، كذلك توجد الفوسفات المعدنية الغير ذائبة في الأسمدة المعدنية التي تضاف إلي التربة الزراعية مثل خبث المعادن.

ب) فوسفات معدنية قابلة للذوبان حيث توجد في المركبات المعدنية مثل فوسفات الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم والماغنسيوم.

سلوك الفوسفور في الأراضى Phosphorus behavior in soil

في الأراضي القاعدية ذات الـ pH المرتفع نجد أن فوسفات الكالسيوم الأحادية الذائبة سواء المضافة أو الموجودة بالتربة تتحول إلي الحالة الثنائية الأقل ذوباناً ثم لا تلبث وأن تتحول الصور الثنائية إلي الصورة الثلاثية عديمة الذوبان حيث تترسب وتصبح غير ميسرة للنباتات.



أكثر ذوباناً أقل ذوباناً عديم الذوبان

أما في الأراضى الحمضية ذات الـ pH المنخفض فإن الفوسفات الذائبة تترسب في صورة فوسفات الحديد أو الألومونيوم وهذه الصور من الفوسفات شديدة المقاومة لعملية الإذابة بواسطة الكائنات الحية الدقيقة مما يؤدى إلى أعراض نقص الفوسفور Phosphorus deficiency على النباتات. مما سبق يتضح أن كمية الفوسفور الميسرة في التربة قليلة لذلك تعانى النباتات المنزرعة من أعراض نقص الفوسفور بالرغم من توفر مركبات الفوسفور في التربة، لذلك ركزت الدراسات الميكروبيولوجية في الأونة الأخيرة علي عزل بعض الكائنات الحية الدقيقة والتي لها القدرة علي معدنة مركبات الفوسفور العضوية أو إذابة مركبات الفوسفور المعدنية وتنميتها على البيئات المعملية واستخدامها فى تلقيح التربة الزراعية لكى تيسر عنصر الفوسفور للنباتات المنزرعة.

معدنة مركبات الفوسفور العضوية

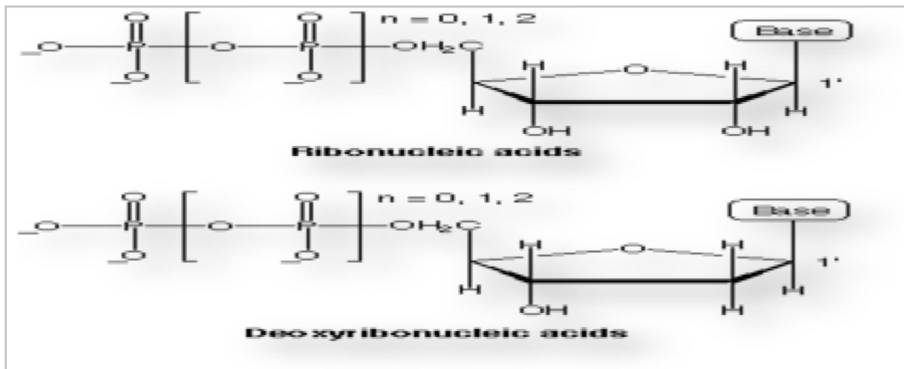
Mineralization of organic phosphorus compounds

تعتبر البقايا النباتية المتحللة هى المصدر الرئيسى للفوسفور العضوى ، حيث يدخل فى تركيب الأحماض النووية والفيتين والفوسفولبيدات واللسيثين والسكريات المفسفرة والمرافقات الإنزيمية وفوسفات الأدينوسين، وتعتبر الأحماض النووية من أسرع المركبات الفوسفاتية العضوية تحللا في التربة ، ويرجع ذلك إلي احتواء الأحماض النووية علي كل من الكربون والنيتروجين والفوسفور وبنسب تفي باحتياجات Requirements الكائنات الحية الدقيقة المحللة، تحتوى التربة علي أنواع كثيرة من الكائنات الحية الدقيقة قادرة علي تحليل الأحماض النووية حيث تستطيع هذه الكائنات الحية الدقيقة أن تستخدم مثل هذه المركبات كمصدر وحيد للكربون والنيتروجين والفوسفور.

والأحماض النووية تتحلل بواسطة الكائنات الحية الدقيقة إلي مكوناتها الأساسية وهي القواعد الأزوتية مثل قواعد البيورين والبيريميدين وسكريات خماسية Pentose sugars وينطلق ما بها من فوسفور في صورة فوسفات معدنية صالحة لتغذية النبات مباشرة دون الحاجة إلي أكسدة لأن الفوسفور يوجد في المركبات العضوية في الصورة المؤكسدة PO_4 بعكس النيتروجين والكبريت واللذان يوجدان في المركبات العضوية في الصورة المختزلة ($-NH_2$ &$-SH$)، لذلك لابد من أكسدة الأمونيا إلي نترات من خلال عملية التأزت وكذلك تتأكسد مركبات الكبريت المختزلة إلي كبريتات حتي تستطيع النباتات الاستفادة منها.

التمثيل الغذائى للأحماض النووية Metabolism of nucleic acids

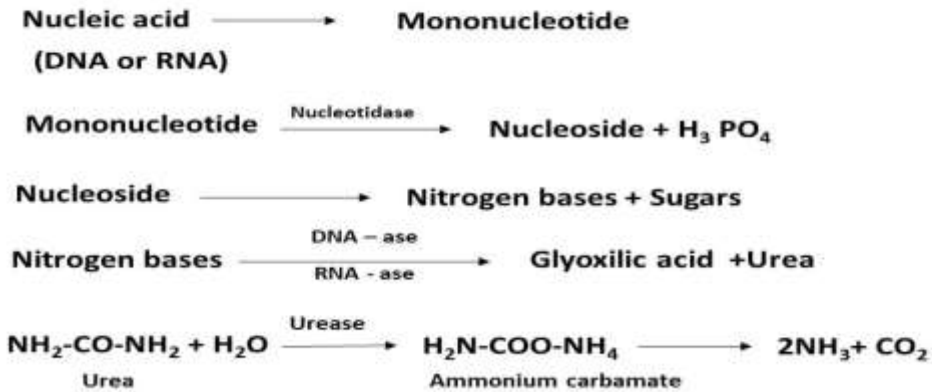
الأحماض النووية تلى البروتينات في أهميتها كمواد نيتروجينية تستخدمها الميكروبات في تغذيتها ، وتوجد هذه المواد الغنية في النيتروجين في الأنسجة النباتية والحيوانية وبروتوبلازم الخلايا ، لهذا فإن مصير هذه الأحماض النووية يؤثر بدرجة واضحة علي تتابع خطوات عملية المعدنة في التربة .وتحتوى أنسجة الكائنات الحية عموماً علي نوعين من الأحماض النووية هما حمض الريبونيوكليك RNA ودى أوكسى حمض الريبونيوكليك DNA شكل [٢(٣)-١]، ويتكون كل حمض من نيوكليتيدات عديدة التي تتكون من بلمرة وحدات تركيبية تعرف بالنيوكليتيدات الأحادية ، وتتكون الأخيرة من قاعدة أزوتية قد تكون مرتبطة مع بيورين أو بيريميدين وسكر خماسى وفوسفات، ويدخل سكر الريبوز في تركيب حمض RNA بينما يدخل سكر الدي أوكسى ريبوز في تركيب حمض DNA، وتوجد قواعد البيورين (الأدنين والسيتوزين والجوانين) في جزيئات كل من DNA, RNA أما بالنسبة لقواعد البيريميدين يوجد اليوراسيل في الحمض النووي RNA والثيامين في الحمض النووي DNA .



شكل٢(٣) -١: الأحماض النووية

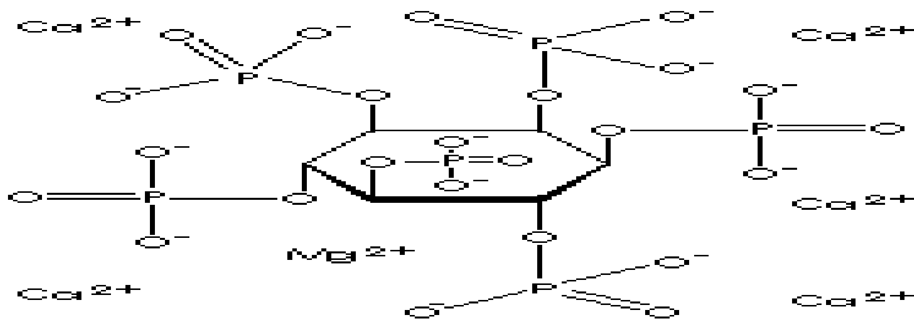
وتتحلل الأحماض النووية بواسطة الكائنات الحية الدقيقة إلى مكوناتها الأساسية وهى القواعد النيتروجينية وسكريات خماسية ويتحرر مابها من فوسفور فى صورة فوسفات معدنية جاهزة للنبات وذلك بواسطة إنزيمات Nucleases ، وتتكون إنزيمات الريبونيوكلييز الخارجية بواسطة أنواع من البكتيريا مثل *Mycobacterium*, *Pseudomonas, Bacillus* وأنواع من الفطريات من جنس *Aspergillus, Rhizopus, Penicillium, Mucor, Fusarium*، كما تقوم بعض أنواع البكتيريا التى تتبع الأجناس *Pseudomonas, Clostridium, Bacillus* بإفراز إنزيمات الدى أوكسى ريبونيوكلييز وكذلك بعض أنواع الفطريات التى تتبع الأجناس *Cladosporium, Fusarium*.

وتتشابه النيكلوتيدات الأحادية مع بعضها في التحلل النهائى وذلك علي الرغم من اختلاف القاعدة النيتروجينية المحتوية عليها حيث تحلل الميكروبات جزيئاتها جميعا للحصول علي الطاقة والكربون والنيتروجين اللازم لنموها، التخلص من مجموعة الفوسفات حيث يتكون النيوكلوسيدات ثم ينفصل السكر وبمجرد تكون النيكلوتيدات الأحادية نجد أن استمرار التحلل يؤدي إلي تكوين القواعد الأزوتية. وتتحلل بعد ذلك القواعد الأزوتية ويتكون منها حمض الجليوكسليك واليوريا والمعادلات التالية توضح ذلك:



شكل٢(٣) -٢: خطوات تحلل الأحماض النووية

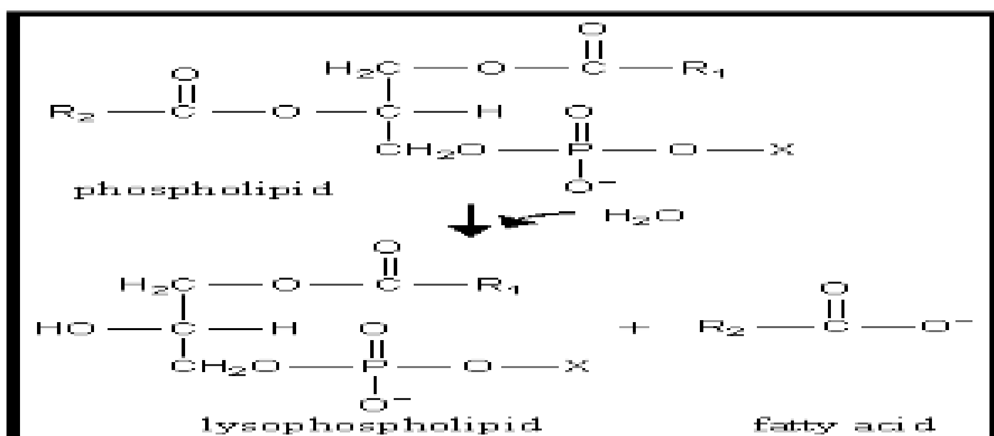
ويتصاعد CO_2 نتيجة للتمثيل الغذائى للسكر بواسطة الكائنات الحية الدقيقة الهوائية، ويتوقف إنتاج الأحماض العضوية علي مدي توفر الأكسجين. وغالباً ما تتحلل القواعد النيتروجينية وينفرد منها النيتروجين. أما الفيتين فهو من الناحية الكيماوية عبارة عن **Inositol hexaphosphate** كما في شكل [٢(٣) ٣] ويوجد بكثرة في الأنسجة النباتية خصوصا في البذور حيث يوجد علي صورة حمض فيتيك وتقوم أنواع كثيرة من البكتيريا والفطريات بتحليله بواسطة إنزيم **Phytase** فيتحول الفوسفور العضوي إلي فوسفات معدنية كما يلي :



شكل ٢(٣) ٣: الشكل البنائي للفيتين

كذلك يوجد العديد من الكائنات الحية الدقيقة في التربة الزراعية والتي لها المقدرة علي تحلل الفوسفوليبيدات مثل (الليسيثين والسفالين) حيث يؤدى التحلل البيولوجى لها إلي تحرر الفوسفات منها وتصبح ميسرة للامتصاص بواسطة النباتات ، وعلي سبيل المثال فإن الليسيثين يتحلل بيولوجيا إلي أحماض دهنية ، جليسرول وقاعدة نيتروجينة (الكولين) وفوسفات معدنية كما في شكل [٢(٣) ٤]، ومن أهم الكائنات الحية الدقيقة ذات المقدرة علـي تحلل الليسيثين ما يلى:

Ps. longa, , Ps. trucosa, Ps.liquifaciens **and** ***Chromobacterium flavum***



شكل٢ (٣) –٤: تحلل الفوسفولبيدات

إذابة مركبات الفوسفور المعدنية

Solubilization of inorganic phosphorus compounds

تعتبر عملية إذابة مركبات الفوسفور الغير عضوية في التربة بواسطة الكائنات الحية الدقيقة من العمليات البيولوجية الهامة جدا ، إذ أنه من المعروف أن كمية الفوسفور الميسرة في الأراضى المصرية قليلة وذلك بسبب ارتفاع درجة الـ pH ، ليس هذا فحسب بل إن إضافة أى مركبات فوسفاتية للتربة في صورة ميسرة لا تلبث وأن تتحول إلي صورة غير ميسرة . وتتم عملية إذابة الفوسفات الغير قابلة للذوبان بواسطة كائنات التربة بطريقة غير مباشرة حيث تتحول الفوسفات إلي حالة ذائبة تستطيع النباتات المنزرعة الاستفادة منها، ومن أهم الميكانيكيات التي من خلالها يتم إذابة للفوسفات تكون الأحماض العضوية والتي تنتج بفعل البكتيريا نتيجة لتحلل المواد الكربوهيدراتية والمواد البروتينية حيث يتكون مجموعة كبيرة ومتنوعة من الأحماض العضوية مثل حمض الخليك والبروبيونيك والبيوتريك وحمض ألفا – كيتو – جلوكونيك. ولقد أوضح بعض الباحثين الأهمية الخاصة لحمض ألفا – كيتو –

جلوكونيك والذى يعمل علي سرعة إذابة الفوسفات و يرجع ذلك إلي تكوينه لمواد معقدة أو مخلبية **Chelating compounds** مع بعض الكاتيونات مثل الكالسيوم والحديد مما يساعد علي إذابة الفوسفات وهذا الحمض تفرزه الكثير من ميكروبات التربة ، كذلك ينتج أحماض غير عضوية مثل حمض النيتريك الذى ينتج خلال عملية التأزت **Nitrification** وحمض الكبريتيك الذى ينتج خلال عملية أكسدة مركبات الكبريت، تتفاعل الأحماض الناتجة من عملية التأزت أو أكسدة الكبريت مثل حمض الكبريتيك والنيتريك مع أملاح الفوسفات فينتج فوسفات قابلة للذوبان (ميسرة للنبات) كما يتضح من المعادلات التالية:



$$\text{Polysaccharides} \longrightarrow \text{Monosaccharides}$$



$$\text{Monosaccharides} \longrightarrow \text{Organic acids}$$



$$\text{Proteins} \longrightarrow \text{Amino acids}$$



$$\text{Amino acids} \xrightarrow{\text{Deaminases}} \text{Organic acids}$$



$$2NH_3 + 3O_2 \longrightarrow 2HNO_2 + 2H_2O + \text{Energy}$$



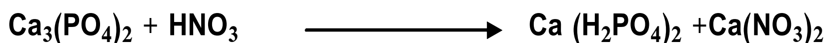
$$2\ HNO_2 + O_2 \longrightarrow 2HNO_3 + \text{Energy}$$



$$S + H_2O + 1\tfrac{1}{2}\ O_2 \longrightarrow H_2SO_4 + \text{Energy}$$



$$Ca\ HPO_4 + CaSO_3 \longrightarrow Ca_3(PO_4)_2 + H_2\ SO_4$$



$$Ca_3(PO_4)_2 + HNO_3 \longrightarrow Ca\ (H_2PO_4)_2 + Ca(NO_3)_2$$

مما سبق يتضح أن الكائنات الحية الدقيقة الهتيروتروفية (عضوية التغذية) تعمل علي إذابة مركبات الفوسفور بفعل الأحماض العضوية ، أما الكائنات الحية الدقيقة الأوتوتروفية مثل المؤكسدة للأمونيا أو الكبريت فهى تعتمد أساساً علي حمض النيتريك والكبرييتك في إذابة مركبات الفوسفور في التربة ، وتلعب فطريات الميكوريزا دورًا فعالاً في إمداد النباتات المتعايشة معها بالفوسفات الذائبة حيث وجد أن هيفات هذه الفطريات في حالة النباتات المصابة بها لها القدرة علي امتصاص الفوسفات بدرجة أكبر من جذور النباتات غير المصابة بالميكوريزا.

تأثير فطريات الميكوريزا علي العوائل النباتية

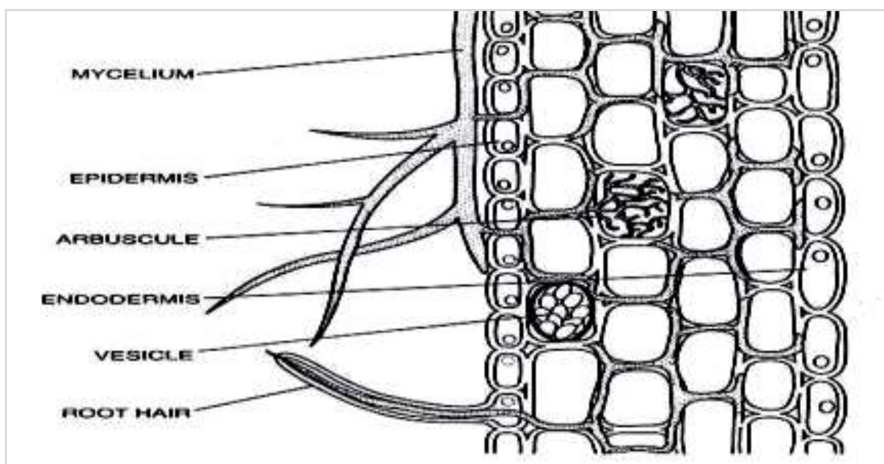
Effect of mycorrhizae fungi on host plants

يعزى التأثير الإيجابي للميكوريزا علي العوائل النباتية إلي أن هيفات الفطر الممتدة في التربة والمتصلة بالجذور تمثل شبكة إضافية من الشعيرات الجذرية تقوم بنقل الماء والعناصر الغذائية من التربة إلي التفرعات الشجيرية بالفطر داخل قشرة جذر العائل ومنها إلي أجزاء النبات المختلفة، ويرجع زيادة تيسر الفوسفات للنبات نتيجة إفراز الميكوريزا لإنزيم الفوسفاتيز وكذلك تشجيع الميكوريزا لجذور العائل علي إفراز الأحماض وثانى أكسيد الكربون والتى تزيد من ذوبان الفوسفات في التربة، كما أن الإصابة بالميكوريزا تزيد من نشاط إنزيم **Glutamine synthetase** وهذا الإنزيم يتميز بالقابلية العالية للارتباط بالأمونيا وبالتالى قد يلعب دورًا هاماً في امتصاص الأمونيا بواسطة هذه الفطريات كما لوحظ أيضاً أن بعض النباتات المصابة بالميكوريزا قد زاد محتواها من عنصر الزنك عند تنمية هذه النباتات في أراض فقيرة في هذا العنصر وتزيد هذه الفطريات أيضاً من امتصاص النبات لبعض العناصر الأخرى مثل البوتاسيوم والنحاس والكبريت ، ولقد أظهرت الدراسات الحديثة أن معظم النباتات المصابة بالميكوريزا تتحمل الجفاف بدرجة أعلى من النباتات الغير المصابة كذلك وجد أن إصابة الجذور بالميكوريزا يقلل من إصابتها بالمسببات المرضية وقد عزى ذلك إلي:

١ -زيادة سمك الجدر الخلوية لمنطقة القشرة بالجذور.

٢ -إفراز مواد مضادة للمسببات المرضية.

٣ -كذلك تستطيع بعض أنواع فطريات الميكوريزا إنتاج منظمات النمو مثل أندول حمض الخليك والإيثلين والسيتوكينين مما يشجع من نمو النباتات.



شكل٢ (٣) -٥: اختراق فطر الميكوريزا لجذر النبات وتكوين الأوعية

التحولات البيولوجية للفوسفور في الأراضي

Biotransformation of phosphorus in Egyptian soils

١- أوضحت الدراسات احتواء الأراضي على أعداد كبيرة من الميكروبات المذيبة للفوسفات تصل إلي عدة ملايين لكل جرام تربة ، وتتوقف أعداد تلك الكائنات على ظروف التربة ونوع وعمر النبات النامي ، فهي تزيد في الأراضي الخصبة بينما توجد بقلة في الأراضي الملحية والقلوية، كما أنها توجد بكثافة أكبر في الأراضي المنزرعة بالبقوليات عن تلك المنزرعة بالنجيليات ويزيد عددها بتقدم عمر النبات حتى مرحلة بدء تكون البذور وبعدها تأخذ في الانخفاض حتى نهاية نضج المحصول ، وكذلك تزداد في العدد في الأراضي المسمدة بالأسمدة العضوية .

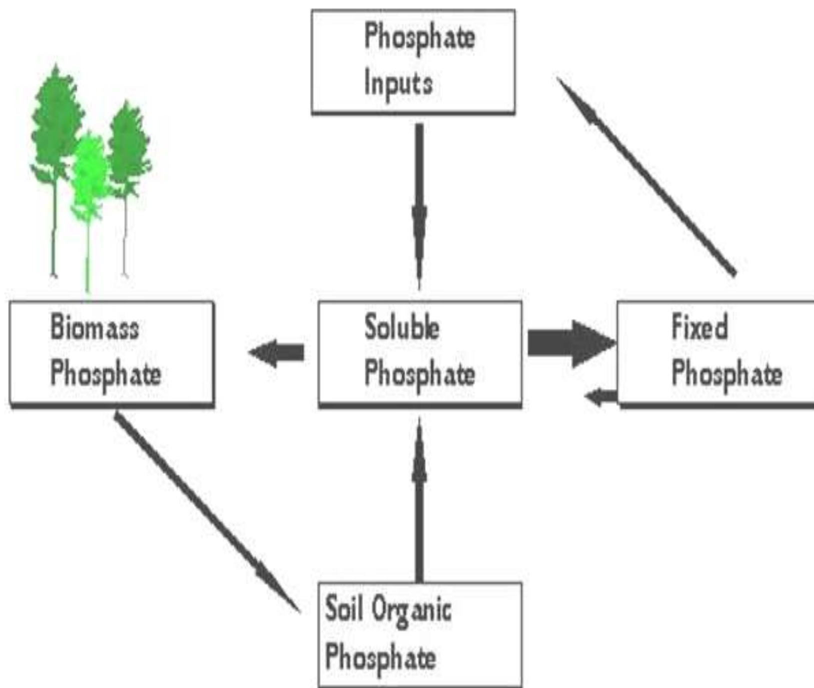
٢-تحتوي منطقة الريزوسفير على نسبة مرتفعة من الميكروبات المذيبة للفوسفات، وتمثل من ٣٠ – ٥٠ ٪ من العدد الكلي للميكروبات بتلك المنطقة.

٣-تلعب فطريات الميكوريزا دورا ملموسا في إمداد النباتات المتعايشة معها بالفوسفور.

٤-وجود الميكروبات المذيبة للفوسفات بكثافة عالية في الأراضي يلعب دورا مؤثرا في إنتاجية هذه الأراضي، فمن المعروف أن pH هذه الأراضي يتراوح ما بين ٧.٥ إلي ٩ ، وهذا يؤدي إلي وجود معظم الفوسفور بالتربة في صورة غير ميسرة للنبات ، وبذلك فإن النباتات النامية تعتمد بدرجة كبيرة على أحياء التربة الدقيقة لسد احتياجاتها من الفوسفور الميسر.

٥-وجد أن تلقيح التربة أو البذور بالسلالات ذات الكفاءة العالية **High efficiency** في إذابة الفوسفات يزيد من نمو النباتات وامتصاصها للفوسفات.

٦- تتراوح نسبة الفوسفور الكلي بالأراضي ما بين ٠.٠٥ -٠.٢ ٪ أما الفوسفور الذائب فأنه يتراوح ما بين ٠.١٥-١.١ مليجرام فوسفور لكل ١٠٠ جم تربة، يمثل الفوسفور العضوي بالأراضي المصرية من ٢٠ – ٨٥ ٪ من الفوسفور الكلي الموجود بها ، وتحتوى هذه الأراضي على أعداد من الميكروبات تصل إلي $١٠^{٦}$ / جم تربة لها القدرة على معدنة الفوسفور العضوي ، وهذا يؤدي إلي المساهمة في إمداد النباتات النامية باحتياجاتها من الفوسفور تحت ظروف التربة القاعدية، ولقد لوحظ أيضاً أن أعداد هذه الميكروبات أكبر في منطقة الريزوسفير عن التربة البعيدة، ولقد وجد أن أكثر الأنواع الميكروبية انتشارًا بالأراضي المصرية ذات الكفاءة العالية في تحليل الفوسفات العضوية والمعدنية ، هي الأنواع الهوائية المتجرثمة التي تتبع جنس ***Bacillus*** وكذلك الأنواع التي تتبع جنس ***Streptomyces*** ، حيث يمثل كل منهما من ٢٠-٦٠ ٪ من مجموع الميكروبات المحللة للفوسفات.



شكل ٢ (٣) –٦: دورة الفوسفور فى الطبيعة

(الباب الثانى–الفصل الرابع)

دور الكائنات الحية الدقيقة في تحولات الكبريت في التربة

Role of microorganisms in sulphur transformations in soil

يعتبر الكبريت عنصرا هاما في تغذية النبات ويوجد في التربة الزراعية بنسبة ٠,١١٪ في المتوسط ويصل الكبريت إلى التربة من المصادر الأتية:

١- بقايا النباتات وخاصة التابعة للعائلة الصليبية.

٢- المخلفات الحيوانية.

٣- الأسمدة المحتوية علي كبريتات مثل السوبر فوسفات.

٤- الكبريت الذى يضاف إلي التربة الزراعية كمخصب أو الذى يستخدم فى مقاومة الأمراض الفطرية.

٥- مياه الأمطار.

وعادة يوجد الكبريت في المواد العضوية علي صورة مجاميع سلفاهيدريل Sulfhydryl group (SH) ، ومن أمثلة ذلك بعض الأحماض الأمينية الكبريتية مثل Cystine, Cysteine والميثيونين Methionine وبعض المركبات الأخرى مثل الجلوتاثيون والثيويوريا كما يدخل في تركيب بعض الفيتامينات مثل الثيامين والبيوتين، أما صور الكبريت غير العضوية فهي:

الكبريتات والكبريتيت والثيوكبريتات والتتراثيونات وكبريتور الأيدروجين والكبريت. والمعروف أن النباتات النامية تأخذ احتياجاتها من الكبريت في صورة كبريتات، ومن أهم العمليات البيولوجية التى تحدث لمركبات الكبريت فى التربة ما يلى:

١- معدنة مركبات الكبريت العضوية.

٢- أكسدة مركبات الكبريت المعدنية.

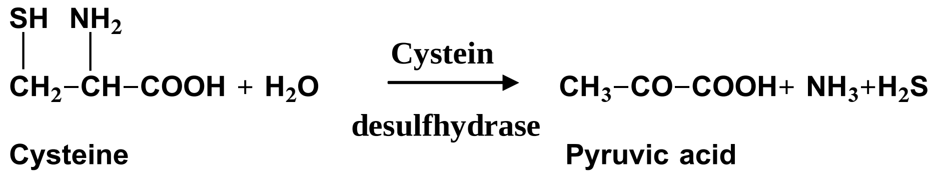
٣- اختزال الكبريتات.

٤- تمثيل مركبات الكبريت المعدنية في أجسام الميكروبات.

معدنة مركبات الكبريت العضوية Mineralization of organic sulfur

يوجد الكبريت في المادة العضوية خصوصا في الأحماض الأمينية الكبريتية الداخلة في تركيب البروتين في صورة مجاميع سلفاهيدريل (Sulfhydryl, SH) ولابد أن تحدث معدنة لمركبات الكبريت تشبه عملية النشدرة في دورة النيتروجين لحد كبير ، لذلك فإن البروتين المحتوى علي الأحماض الأمينية المحتوية علي كبريت لابد أن يتحلل بواسطة الكائنات الحية الدقيقة المحللة للبروتينات حيث يحدث تكسير للسلاسل الببتيدية إلي جزيئات أصغر فأصغر حتى تتكون الأحماض

الأمينية، ثم بعد ذلك فإن الأحماض الأمينية المحتوية علي كبريت مثل Methionine, Cystine, Cysteine يحدث لها تحلل حيث يتم خلال هذا التحلل نزع مجاميع السلفوهيدريل وينتج H_2S وبذلك يتم معدنة الكبريت العضوى كما يتضح من المعادلة التالية.



أكسدة مركبات الكبريت غير العضوية Oxidation of inorganic sulfur compounds

تقوم بعض الكائنات الحية الدقيقة ذاتية التغذية بأكسدة الكبريت أو كبريتور الأيدروجين إلي كبريتات، وتعتبر هذه العملية هامة جدا لخصوبة التربة الزراعية حيث يتحول فيها الكبريت إلي صورة صالحة لتغذية النباتات، ومن أهم البكتريا ذاتية التغذية المؤكسدة للكبريت هي:

أ-البكتيريا ذاتية التغذية الكيماوية

Chemolithotrophic (autotrophic) bacteria

وهى بكتيريا هوائية وتحصل علي الطاقة من أكسدة مركبات الكبريت المعدنية وهذه المجموعة من البكتريا لا تكون صبغات داخل خلاياها .وتوضع تلك البكتريا تبعا لتقسيم برجى فى المجلد الثانى الذى صدر عام ٢٠٠٥ كما يلى:-

Class :Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria

Order :Acidithiobacillales , Hydrogenophilales

Family : Hydrogenophilaceae, Acidithiobacillaceae

Acidithiobacillus thiooxidans

A. ferrooxidans, Thiobacillus thioparus

T. denitrificans

لا تقتصر أكسدة الكبريت علي الميكروبات من جنس ***Thiobacillus*** وجنس ***Acidithiobacillus*** حيث أن هناك ميكروبات أخرى يمكنها القيام بنفس هذه التحولات تتبع جنس ***Sulfolobus*** وهى تؤكسد الكبريت المعدنى الموجود طبيعياً في هذه الأراضى الحمضية وتقوم بإنتاج حمض الكبريتيك عند درجات الحرارة التي تصل إلي ٥٨°م، ومما هو جدير بالذكر أن أكسدة مركبات الكبريت غير العضوية لا تقتصر علي الأنواع سابقة الذكر فقط وإنما يوجد أجناس

بكتيرية أخرى تقوم بأكسدة مركبات الكبريت غير العضوية بالتربة منها جنس ***Beggiatoa*** وهو ميكروب خيطي الشكل يقوم بأكسدة H_2S كما يلي:



$$2H_2S + O_2 \longrightarrow 2S + 2H_2O + Energy$$



$$2S + 3O_2 \longrightarrow 2H_2SO_4 + Energy$$

كذلك جنس ***Thiothrix*** وهو يشبه في الشكل جنس ***Beggiatoa*** إلا أن الخلايا الطرفية للخيوط تنقسم وتكون جراثيم تعرف بالكونيديا **Conidia**.

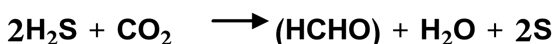


شكل٢ (٤)-١: بكتيريا ***Thiothrix*** & ***Beggiatoa***

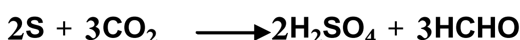
كذلك يوجد مجموعة أخرى من البكتيريا تعرف بالبكتيريا الممثلة للضوء **Photolithotrophic bacteria** وهي بكتريا لاهوائية تحصل علي الطاقة من ضوء الشمس وتكون صبغات داخل خلاياها ومنها:

أ- بكتيريا الكبريت الأرجوانية **Purple sulfur bacteria**

وتتميز هذه المجموعة من الكائنات الحية الدقيقة بأنها لاهوائية وتحصل علي الطاقة من ضوء الشمس وتكون صبغات داخل خلاياها ،وهي تابعة لعائلة **Chromatiaceae** وهي عصوية أو حلزونية متحركة بفلاجلات طرفية ، وهذه البكتيريا تكون صبغات لونها أحمر أو أصفر ويترسب الكبريت داخل خلاياها وهى عصوية أو حلزونية متحركة ومن أهم أجناسها جنس ***Chromatium*** حيث يقوم بالتفاعلات التالية:



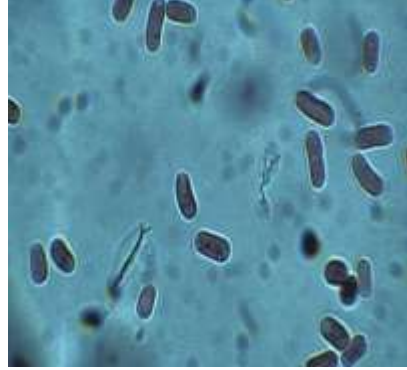
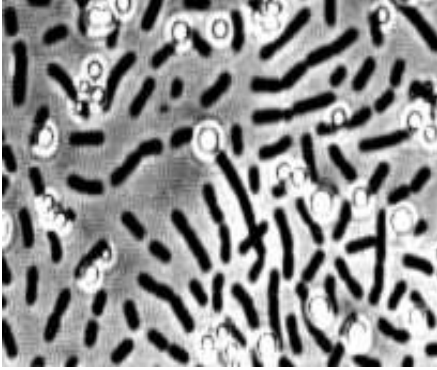
$$2H_2S + CO_2 \longrightarrow (HCHO) + H_2O + 2S$$



$$2S + 3CO_2 \longrightarrow 2H_2SO_4 + 3HCHO$$

ب-بكتيريا الكبريت الخضراء **Green sulfur bacteria**

تتبع لعائلة **Chlorobiaceae** وهذه البكتيريا تكون كلورفيل بكتيري وغير متحركة – لا ترسب الكبريت داخل خلاياها ومن أهم الأجناس جنس ***Chlorobium*** ويقوم هذا الجنس بنفس التفاعلات المذكورة سابقاً.

شكل٢ (٤)-٢ : ***Chlorobium* sp & *Chromatium* sp**

جـ-الكائنات غير ذاتية التغذية **Heterotrophic microorganisms**

تقوم البكتيريا غير ذاتية التغذية والأكتينوميسيتات والفطريات أيضا بأكسدة مركبات الكبريت غير العضوية، ومن المعروف أن هذه الميكروبات لا تحصل علي الطاقة من هذه الأكسدة لأن هذه التحولات تحدث بصفة عارضة في المسارات الرئيسية لعمليات التمثيل الغذائى ، فتقوم مثلا أنواع تتبع أجناس ***Arthrobacter, Bacillus, Flavobacterium, Pseudomonas*** بتحويل الكبريت المعدنى أو الثيوكبريتات إلي كبريتات، بينما تقوم أنواع من جنس ***Streptomyces*** بإنتاج الثيوكبريتات من الكبريت المعدنى، تقوم الفطريات الخيطية والخمائر بأكسدة حبيبات الكبريت الناعمة، كما تقوم كثير من البكتيريا غير ذاتية التغذية في وجود العناصر الغذائية العضوية بتحويل الثيوكبريتات إلي تتراثيونات رباعية، وكقاعدة عامة فإن مثل هذه التفاعلات تكون بطيئة عن مثيلاتها التي تقوم بها بكتيريا الكبريت العضوية، تقوم الفطريات الخيطية بإنتاج الكبريتات من بعض المركبات العضوية مثل السيستين والثيويوريا والميثيونين والتيروزين، والأنواع النشطة في هذا المجال تمثلها أجناس ***Microsporum, Penicillium, Aspergillus*** .

قد يكون لبكتيريا الكبريت أهمية كبيرة من الناحية الزراعية من عدة نواحى خلاف دورها المحتمل في تكوين الكبريتات اللازمة لتغذية النبات، فنشاط هذه الميكروبات يعمل علي تغيير حموضة التربة مما يؤدي إلي الإقلال من الإصابة بأمراض جرب البطاطس أو تعفن البطاطا أو

يؤدي إلي خفض حدة الإصابة بالأمراض وهي ***Streptomyces scabies*** الذي يسبب جرب البطاطس و ***Streptomyces ipomoeae*** المسبب لتعفن البطاطا.

وتقل حدة الإصابة بالمرض عند pH أقل من ٥.٠ تقريبا، وعلي ذلك فإنه يمكن التحكم في المرض بإضافة الكبريت بكميات كافية لإحداث التفاعل إلى الدرجة اللازمة للوصول إلي مستوى الحموضة المحدد لانتشار المرض، والتحكم في مثل هذه الأمراض الناشئة بفعل الإستربتوميسيتات يكون عن طريق حمض الكبريتيك الذي تكونه بكتيريا الكبريت العضوية ويستخدم الكبريت أيضا في إصلاح الأراضى القلوية بطريقة مشابهة، تتسبب أكسدة الكبريت المعدنى في إذابة معادن التربة حيث يتفاعل حمض الكبريتيك المتكون مع هذه المعادن والمواد الأخرى غير الذائبة مما يعمل علي توفير العناصر الغذائية.

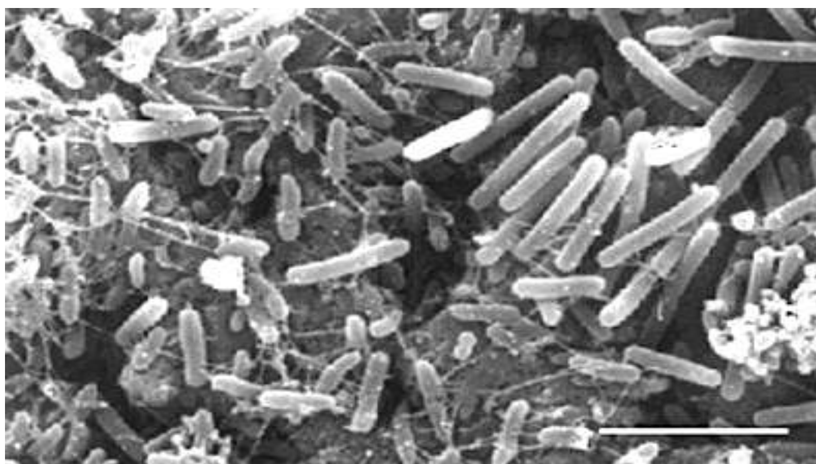
- ***Thiobacillus***

هذا الجنس يتبع قسم البكتيريا السالبة لجرام الأوتوتروفية ، والتى لها القدرة علي أكسدة الكبريت ومركباته المختلفة ومن أهم الأنواع ما يلى :

١. ***Thiobacillus thiooxidans***
٢. ***Thiobacillus ferrooxidans***

درجة الحموضة المثلى لهما من pH ٢.٠ إلي ٣.٥.

٣. ***Thiobacillus novellus***
٤. ***Thiobacillus thioparus***
٥. ***Thiobacillus denitrificans***



شكل ٢(٤) -٣: ***Thiobacillus ferroooxidans***

وتتميز الثلاث أنواع الأخيرة بنموها علي درجات الـ pH المتعادلة أو حتى المائلة قليلا إلي القلوية، وتقوم الأنواع التابعة لهذا الجنس بأكسدة مركبات الكبريت غير العضوية(مثل الكبريت المعدنى, الثيوكبريتات, التتراثيونات) على النحو التالى:

T.thiooxidans, T. novellus



$$Na_2S_2O_3 + 2O_2 + H_2O \longrightarrow 2NaHSO_4 + Energy$$

T. thioparus



$$5\ Na_2S_2O_3 + 4\ O_2 + H_2O \longrightarrow 5Na_2SO_4 + H_2SO_4 + 4S + Energy$$



$$Na_2S_4O_6 + Na_2CO_3 + 1/2\ O_2 \longrightarrow 2Na_2SO_4 + 2S + CO_2 + Energy$$

T. denitrificans



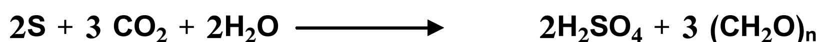
$$5\ S + 6KNO_3 + 2H_2O \longrightarrow K_2SO_4 + 4\ KHSO_4 + 3N_2 + Energy$$

التفاعلات التي تقوم بها البكتيريا الممثلة للضوء

Photolithotrophic bacteria



$$2\ H_2S + CO_2 \longrightarrow (CH_2O)_n + H_2O + 2S$$



$$2S + 3\ CO_2 + 2H_2O \longrightarrow 2H_2SO_4 + 3\ (CH_2O)_n$$

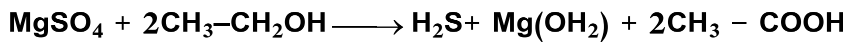
اختزال مركبات الكبريت غير العضوية Reduction of inorganic sulfur compounds

عندما تقل كمية O_2 في التربة نتيجة الغمر بالماء مثلا فإن مستوى الكبريتيد يرتفع إلي تركيزات عالية نسبيا وكثيراً ما يتجاوز 150 ppm . في نفس الوقت يتناقص تركيز الكبريتات، وكثيراً ما يمكن تمييز منطقة في القطاع الأرضى يتراكم فيها كبريتيد الحديدوز، ويصاحب حدوث هذه العمليات زيادة في أعداد البكتيريا المختزلة للكبريتات.

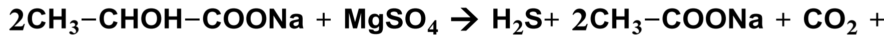
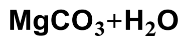
وفي الظروف العادية فإن كثافة أعداد بكتريا اختزال الكبريتات تقل عن $١٠^{٤}$ وكثيراً ما تكون اقل من $١٠^{٣}$ في جرام التربة، ولكن تزداد الأعداد بعد حوالى أسبوعين من غمر الأراضى بالماء بحيث أنها تتجاوز عدة ملايين فى الجرام، معظم الكبريتيد المتراكم في التربة يكون ناشئا عن اختزال الكبريتات، بينما تنتج كمية قليلة فقط من هذا المركب نتيجة معدنة مركبات الكبريت العضوية، والأنواع السائدة من الكائنات الحية الدقيقة في عملية اختزال الكبريتات هي البكتيريا من جنس *Desulfovibrio* ، وهي ميكروبات غير متجرثمة، لاهوائية حتما، تقوم بإنتاج H_2S من

الكبريتات بمعدلات سريعة، وعلي الرغم من التعرف علي وجود عدد من الأنواع التابعة لهذا الجنس إلا أنه يبدو أن ***Desulfovibrio desulfuricans*** وهو ميكروب عصوى منحني – سالب لصبغة جرام – غير متجرثم هو أكثر الأنواع انتشارًا في الطبيعة، يتميز هذا الميكروب بنموه في نطاق محدود من درجات الحموضة، وهو لا ينمو في البيئات الغذائية التي تزيد درجة حموضتها عن ٥.٥ ، وهذا ينعكس علي عدم تكوين الكبريتيد بكميات كبيرة في كثير من الأراضى الحمضية، يوجد أنواع أخرى من البكتيريا المختزلة للكبريتات تتبع جنس ***Desulfotomaculum***.

والأنواع التابعة لهذا الجنس تكون جراثيم وهي إما وسطية أو محبة للحرارة العالية وهي تماثل الأنواع من جنس ***Desulfovibrio*** في أنها تحول الكبريتات إلي كبريتيد، وعلي الرغم من أن خاصية النمو في نطاق الحرارة العالية يكثر في جنس ***Desulfotomaculum*** إلا أن هناك بعض العزلات من جنس ***Desulfovibrio*** يمكنها أيضاً النمو في درجات الحرارة المرتفعة. يمكن للبكتيريا من جنسى ***Desulfotomaculum, Desulfovibrio*** استخدام الكبريتات والمركبات الأخرى من الكبريت غير العضوي كمستقبلات للإلكترونات، لكن لا يمكنها استخدام الأكسجين الجوي أو مركبات الكبريت العضوية لهذا الغرض، وتتضمن معطيات الإلكترونات أو مصادر الطاقة اللازمة للاختزال عدداً من المواد الكربوهيدراتية والأحماض العضوية والكحولات.

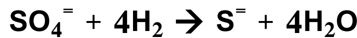


$$MgSO_4 + 2CH_3{-}CH_2OH \longrightarrow H_2S + Mg(OH_2) + 2CH_3 - COOH$$

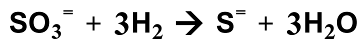



$$2CH_3{-}CHOH{-}COONa + MgSO_4 \rightarrow H_2S + 2CH_3{-}COONa + CO_2 + MgCO_3 + H_2O$$

يمكن لبعض العزلات من ميكروب ***Desulfovibrio desulfuricans*** استخدام الأيدروجين الجزيئى لاختزال الكبريتات والكبريتيت والثيوكبريتات مع استهلاك أربعة وثلاثة وأربعة جزئ جرام من H_2 لكل جزئ جرام من مستقبل الإلكترونات علي التوالى.



$$SO_4^{=} + 4H_2 \rightarrow S^{=} + 4H_2O$$



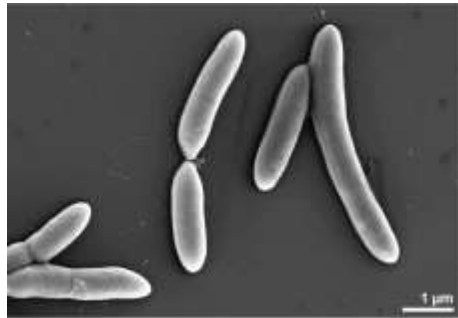
$$SO_3^{=} + 3H_2 \rightarrow S^{=} + 3H_2O$$



$$S_2O_3^{=} + 4H_2 \rightarrow 2SH^{-} + 3H_2O$$

ومع ذلك فإن هذه الميكروبات ليست من الأنواع ذاتية التغذية علي الرغم من استخدامها H_2 في عملية الاختزال، فهي تحتاج لوجود الجزيئات العضوية كمصدر للكربون بالإضافة إلي جنسى ***Desulfotmaculuom, Desulfovibrio*** وهما من الأجناس اللاهوائية فإن هناك دلائل تشير

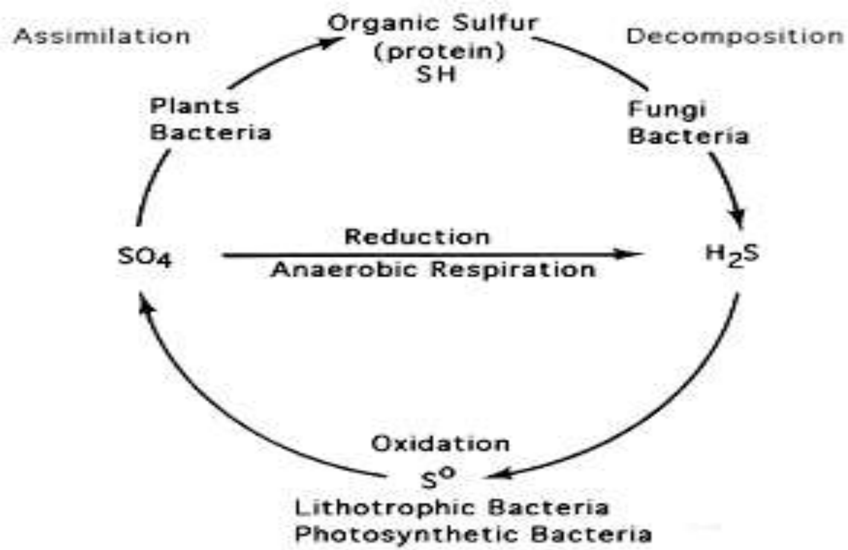
إلي أن بعض السلالات من أجناس *Bacillus, Pseudomonas, Saccharomyces* تعمل علي إنتاج H_2S من الكبريتات، ولكن لم يتم التأكد بعد من أهمية هذه الأجناس الثلاثة من هذه الناحية في التربة، والكائنات الحية الدقيقة المسئولة عن خفض كمية الكبريتات الميسرة لها تأثير كبير علي خصوبة التربة حيث إنها تقلل من مصدر الإمداد الرئيسي للمحاصيل الزراعية بعنصر الكبريت، ومن هذا المنطلق فإن البكتريا المختزلة للكبريتات تعتبر ذات أهمية اقتصادية كبيرة، والتركيزات القليلة من نواتج التمثيل الغذائى لهذه الميكروبات تكون ذات تأثير سام للأرز وأشجار الموالح، وهي دون شك لها نفس التأثير السام علي المحاصيل والأشجار الأخرى ذات الأهمية الزراعية، فتحت بعض الظروف الخاصة المرتبطة بغمر الأراضى بالماء أو سوء الصرف فيها فإن التأثير السام علي النبات قد يؤدي إلي خسائر اقتصادية كبيرة، ويبدو أن H_2S الحر هو الذي يسبب هذه الأضرار للجذور وأن وجود أيونات الحديدوز التي تعمل علي ترسيب الكبريتيد في صورة FeS تقلل أو تعمل علي حماية النبات من التاثير السام للكبرتيد، يمكن أيضا أن يعمل H_2S الذي تنتجه الميكروبات من جنس *Desuflovibrio* علي قتل النيماتودا والفطريات التي تعيش في الأراضى المغمورة بالماء. وقد يكون لهذه الميكروبات اللاهوائية دورا بارزا في الأراضى الملحية من المناطق الجافة. فعند غمر هذه الأراضى بالماء، فإنه ينتج عن اختزال البكتريا للكبريتات إنتاج كميات متكافئة من الكربونات وهذه بدورها تعمل علي ترسيب الكالسيوم في صورة $CaCO_3$ وبذلك تقلل من ملوحة التربة.



شكل ٢(٤) ٤ : *Desulfotmaculuom* .



شكل ٢(٤) ٥ : *Desulfovibrio*



شكل٢ (٤) –٦: دورة الكبريت في الطبيعة

(الباب الثانى-الفصل الخامس)

دور الكائنات الحية الدقيقة في تحولات الحديد في التربة

Role of microorganisms in transformations of iron in soil

من المعروف أن الحديد يوجد في التربة كمكون أساسى من مكونات معادنها ، وبالرغم من وجوده بكميات عالية نسبيا إلا أن أغلبه يكون في صورة غير ميسرة للنبات وكثيرا ما تظهر بعض أعراض نقصه علي النباتات ، وتلعب التفاعلات الحيوية في التربة دورا هاما في تحولات الحديد المختلفة ، ويمكن تلخيص الأدوار المختلفة التي تقوم بها الكائنات الحية الدقيقة في تحولات الحديد في التربة في النقاط الأتية :

١- يوجد في التربة مجموعة ميكروبية هامة يطلق عليها اسم بكتيريا الحديد Iron bacteria وهذه البكتيريا تقوم بأكسدة مركبات الحديدوز Ferrous الذائبة إلي حديديك Ferric.

٢- كثير من ميكروبات التربة عضوية التغذية Organotrophic يمكنها أن تهاجم أملاح الحديد العضوية الذائبة والموجودة في التربة وتحولها إلي صورة معدنية اقل قابلية للذوبان.

٣- تحدث ميكروبات التربة تغيرات كبيرة في جهد التأكسد والاختزال في الوسط الذي تعيش فيه، ويؤدي انخفاض جهد التأكسد والاختزال الناتج عن نشاط هذه الكائنات الحية الدقيقة إلي تحول مركبات الحديديك غير الذائبة إلي مركبات حديدوز ذائبة.

٤- كثير من أنواع البكتيريا والفطريات تنتج في أثناء نموها وتحليلها للمواد العضوية نواتج حمضية التأثير تؤدى إلي زيادة الحموضة في مناطق نموها مما يساعد علي ذوبان مركبات الحديد في التربة.

٥- تؤدى الظروف اللاهوائية التي تكون كميات كبيرة من H_2S وهذا يؤدى إلي ترسيب مركبات الحديد في صورة غير ذائبة.

٦- قد يؤدى تكوين الأحماض العضوية في التربة أثناء تحلل المواد العضوية إلي اتحادها كيماويا مع أيونات الحديد لتكون Organic iron complex أكثر قابلية للذوبان.

بكتيريا الحديد Iron bacteria

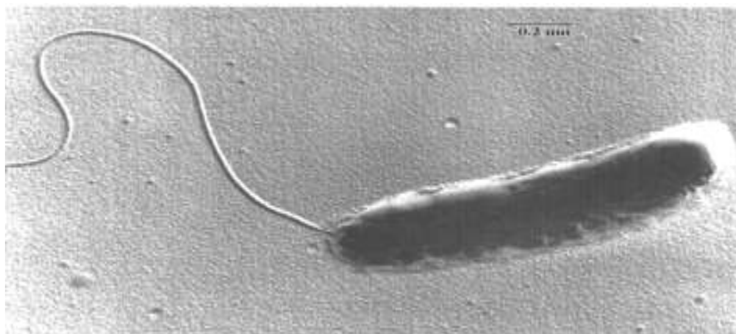
يوجد في التربة مجموعة ميكروبية معقدة قادرة علي أكسدة مركبات الحديد ، وهذه المجموعة تتضمن ميكروبات ذاتية التغذية مؤكسدة للمواد الكيماوية Chemolithotrophic وميكروبات هتيروتروفية Organotrophic وميكروبات ذاتية اختيارية Facultative lithotrophic ، وأغلب أنواع بكتيريا الحديد ذات شكل خيطى وأغلبها محاط بغلاف Sheath من هيدروكسيد الحديديك أو المنجنيز ، وهذه الكائنات الحية الدقيقة يصعب زراعتها وعزلها في

الأوساط المعملية ، وهي ميكروبات هوائية حتما **Obligate aerobes** لا تنمو في غياب الأكسجين وتفضل الأوساط المتعادلة أو المائلة للقلوية.

أكسدة الحديدوز بواسطة الميكروبات

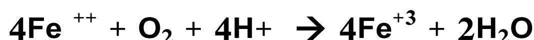
Ferrous oxidation by microorganisms

يعتبر ميكروب ***Acidithiobacillus ferrooxidans*** والاسم القديم له هو ***(Thiobacillus ferrooxidans)*** قادر على إنتاج الحديد من خام الكبريتيد بالطرق الحيوية، وتعتبر قدرة هذه البكتريا علي أكسدة أملاح الحديدوز عند **pH** 3.5 في غياب المواد العضوية دليلا واضحا علي التغذية غير الذاتية لهذا الميكروب، وهي ظاهرة يندر إثباتها في كثير من الكائنات الحية الدقيقة التي تتكون علي أسطح خلاياها ترسيبات من أملاح الحديديك عند النمو في محاليل ذات **pH** متعادل. فعند درجة الحموضة القريبة من التعادل تصبح أملاح الحديدوز قابلة للأكسدة بالطرق غير الحيوية وقد تترسب علي خلايا الميكروبات، وتتم أكسدة أملاح الحديدوز بواسطة ***A. ferrooxidans*** الذاتي التغذية الكيميائية عند رقم **pH** يتراوح ما بين 2.0 – 4.5 وتكون الدرجة المثلي في حدود 2.5 – 3.5 **pH** تقريبا، وأن هذا المدي من درجات الحموضة يدل علي أن نشاط الميكروب يقتصر علي الأراضي الحمضية فقط، وتختلف سلالات هذا الميكروب في النطاق الملائم من درجات الحموضة وأيضا في درجة الحموضة المثلي لنشاطها، إلا أنها جميعاً يقتصر وجودها علي الظروف الحمضية.



شكل ٢(٥)١: بكتيريا ***Acidithiobacillus ferrooxidans***

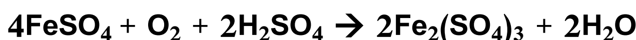
يمكن تصوير التفاعل المنتج للطاقة اللازمة لنمو ***A. ferrooxidans*** بعدة طرق، فهي تحصل علي الطاقة عن طريق عمليات هوائية يتأكسد فيها الحديدوز إلي حديديك.



$$4Fe^{++} + O_2 + 4H^+ \rightarrow 4Fe^{+3} + 2H_2O$$

حديدوز   حديديك

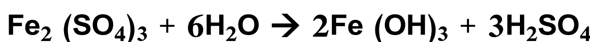
وبذلك يمكن أن يكون الناتج الرئيسي هو كبريتات الحديديك، وأحيانا ما تكتب المعادلة التي تمثل إنتاج الطاقة بحيث تتضمن وجود هذا الجزئ.



$$4FeSO_4 + O_2 + 2H_2SO_4 \rightarrow 2Fe_2(SO_4)_3 + 2H_2O$$

وغالباً ما تغلف خلية الميكروب بأيدروكسيد الحديديك وأنه من المحتمل أن ينشأ ذلك من تفاعلات غير حيوية يمكن لهذه البكتريا أن تنمو وتستخلص الطاقة من أكسدة الحديدوز، وكما يدل اسم الجنس لهذا الميكروب فإنه يقوم بأكسدة الكبريت غير العضوي، ويمكن لكثير من سلالاته استخدام الكبريتيد والكبريت والثيوكبريتات، وبالفعل فإن هذا الميكروب ذاتي التغذية لذلك فإنه غالبا ما يكون له القدرة علي أكسدة كل من أيونات الحديدوز والكبريتيد.

وتشارك الكائنات غير ذاتية التغذية أيضا في ترسيب أملاح الحديديك، ولكنه من غير الواضح تماما ما إذا كان التفاعل الذي يؤدي إلي ظهور الحديديك في مثل هذه الحالات هو تفاعل إنزيمي أم لا، قد تستخدم الكائنات غير ذاتية التغذية كمية قليلة فقط من الطاقة الناتجة عن الأكسدة أو قد لا تستخدمها علي الإطلاق.



$$Fe_2 (SO_4)_3 + 6H_2O \rightarrow 2Fe (OH)_3 + 3H_2SO_4$$

تحلل مركبات الحديد العضوية

Degradation of organic iron compounds

تعتبر عملية ترسيب الحديد الموجود في عدد من المركبات العضوية الذائبة في الماء أكثر الوسائل أهمية في مجال التحولات المؤدية إلي تغيير الصورة الميسرة من هذا العنصر. فالجزء العضوي من الجزئ يعمل علي إمداد الميكروبات بالطاقة اللازمة لنموها، وعند انتهاء تحلل الشق العضوي من المركب ينفرد الحديد ويترسب في صورة أملاح الحديديك غير الذائبة، لهذا فإن ترسيب هذا العنصر ينتج بصورة مباشرة بفعل الميكروبات علي الجزء العضوي من المركب أكثر منه بفعلها علي الحديد الموجود داخله.

والميكروبات المسئولة عن العملية وهي أساساً البكتريا واسعة الانتشار في التربة فهناك الكثير من السلالات التي تتبع مختلف الأجناس التي يمكنها بهذه الوسيلة إزالة الحديد من محلول التربة عن طريق مهاجمتها للشق العضوي من الأملاح. والميكروبات النشطة في ذلك هي بعض الأنواع من أجناس البكتيريا ***Pseudomonas, Bacillus, Serratia, Acinetobacter,*** ***Klebsiella, Mycobacterium, Corynebacterium*** وكذا عدد من الفطريات الخيطية وأنواع من جنسى ***Nocardia, Streptomyces***.

اختزال الحديد Reduction of iron

توجد معظم كميات الحديد في الأراضي الجيدة الصرف في صورة مركبات علي درجة عالية من الأكسدة، فلا يوجد سوي كميات صغيرة فقط من أيونات الحديدوز، وعند تشبع التربة بالماء أو تحولها بوسيلة أخرى إلي الظروف اللاهوائية فإن محتواها من الحديدوز يرتفع بسرعة ويكون ذلك راجعاً بأكمله إلي تأثير العوامل الحيوية، حيث إنه في حالة تعقيم الأراضي المشبعة بالماء لا يحدث مثل هذا التغيير علي الإطلاق أو قد يحدث مجرد تغير طفيف فقط.

يوجد عدة طرق تؤدي إلي الاختزال الميكروبي لأملاح الحديديك وأحداث الأثر المنشط لوجود المواد القابلة للتخمر، فتكون زيادة الحموضة المصاحبة لعمليات التخمير مناسبة لتحول الحديد، أضف إلي ذلك أن نقص الأكسجين نتيجة عمليات التمثيل الغذائي الميكروبي تعمل علي خفض رقم Eh الوسط مما يؤدي إلي اختزال الحديديك، ومن المحتمل وجود طريقة أخرى لإحداث مثل هذا التحول وهي التفاعل المباشر لنواتج التخمر مع أيدروكسيدات أو أكسيد الحديد، كما يمكن من ناحية أخرى أن ينشأ الاختزال عن طريق انتقال الإلكترونات فيعمل الحديد كمستقبل للإلكترونات أثناء تنفس الخلية الميكروبية بطريقة تماثل ما يحدث عند اختزال النترات بواسطة بكتريا انطلاق النيتروجين.

يقوم كثير من البكتريا بتحويل جزء من $Fe(OH)_3$ أو أكسيد الحديديك المضاف إلي البيئات الغذائية العضوية إلي صورة ذائبة في المحلول وذلك عند النمو في وجود تركيز أقل من المستوى الأمثل من الأكسجين، ولا تعتبر مثل هذه التحولات التي ينتج عنها إنتاج الحديدوز ميزة مقصورة علي جنس معين من الميكروبات، بل هي شائعة في أنواع متباينة من الميكروبات، تتراوح أعداد البكتريا التي لها القدرة علي الاختزال النشط للحديد ما بين 10^4 - 10^5 في الجرام وأحيانا ما تصل إلي 10^6 في الجرام، وأن نسبة عالية قد تصل إلي ١٠٪ من المجموعات البكتيرية النامية علي أطباق الأجار المحضرة من تخفيفات التربة تشارك في عملية الاختزال.

من الأجناس التي تشتمل علي أنواع قادرة علي تحويل الحديديك إلي حديدوز *Bacillus, Clostridium, Klebsiella, Pseudomonas, Serratia* تقوم بعض الأنواع بإنتاج الحديد ثنائى التكافؤ وذلك عندما تصل الحموضة إلي درجة معينة في المنبت الغذائى، ولذلك فإن pH الوسط علي الأقل في مثل هذه الحالة يحتمل أن يكون هو المسئول عن عملية التحول، وفي البعض الأخر من الميكروبات لا تحدث زيادة في درجة الحموضة وبذلك تكون هناك وسيلة أخرى غير الحموضة هي التي تعمل علي الاختزال. وبالنسبة لبعض الميكروبات الهوائية كما في حالة

Fusarium oxysporum فإن وجود أملاح الحديديك قد يسمح بحدوث بعض النمو في غياب الأكسجين ومن أهم البكتيريا التى لها القدرة علي اختزال الحديد ما يلي:

Bacillus circulans, Enterobacter aerogenes and _Escherichia freundii_.

يبدو أن تحول الحديد الثلاثى التكافؤ إلي الحالة الثنائية التكافؤ ينشأ عن فعل الإنزيمات، وذلك علي الأقل في حالة بعض الأنواع غير ذاتية التغذية حيث تعمل أيونات الحديديك كمستقبل للإلكترون في علمية التنفس، فقد يحل الكاتيون الثلاثى التكافؤ محل الأكسجين في عمليات التمثيل الغذائى الخلوى عندما لا يتيسر وجود الأكسجين، يعمل وجود النترات في المزارع علي تثبيط القدرة علي اختزال الحديد لكثير من الأنواع النشطة، وذلك بالإضافة إلي أن كثيراً من الأنواع المختزلة لأيونات الحديديك وليست جميعها، تستطيع أيضاً تحويل النترات إلي نيتريت وعلي هذا الأساس فقد أصبح من المسلم به أن الاختزال الإنزيمى للحديد يتم بإحدى طريقتين:

(أ) يحدث الاختزال في حالة بعض الأنواع غير ذاتية التغذية عن طريق نفس الإنزيم المختص بإنتاج النيتريت من النترات وهو إنزيم Nitrate reductase .

(ب) أن تتضمن عملية التحول وجود أحد الإنزيمات التي لا تعمل في عمليات تمثيل النترات.

هناك إحدى الظواهر التي يحتمل أن يرتبط وجودها بعمليات التمثيل الغذائي الميكروبي للحديد وهي تعرف بظاهرة Gleying ، فالأماكن التي تظهر فيها في قطاع التربة تكون لزجة ذات لون رمادى أو أزرق مخضر فاتح وذات رائحة كريهة، وهي تحدث عندما يرتفع مستوى الماء الأرضي ويرتبط وجود مثل هذه الأفاق بصفة خاصة بالأماكن الغدقة، ويعزي وجود هذه الظاهرة إلي إنتاج كبريتيد الحديدوز FeS تحت الظروف اللاهوائية نتيجة تفاعل الحديد مع نواتج التمثيل الغذائي للاختزال الميكروبي للكبريتات، وفي النماذج المعملية المصممة لمحاكاة هذه الظواهر يتم تحضين خليط من تربة طينية ومحلول من السكر تحت الظروف اللاهوائية بدرجة جزئية أو كلية، ونتيجة نشاط البكتريا يحدث قصر في لون الطين مع ظهور الحديد في المحلول المتخمر ويختلف لون الطين من تربة لأخرى فأحيانا ما يكون أبيض أو رمادياً أو بنياً، في الأراضي المعاملة بالجلوكوز مع غمرها بالماء فإن معدل اختفاء السكر ومعدل تكوين الحديدوز يتبع كلاهما منحني يماثل المنحني الخاص بالنمو البكتيري وتحدث أعلي معدلات لكل من هاتين العمليتين في نفس الوقت، وهذا يشير إلي أن البكتيريا هي العامل المسئول عن حدوث ظاهرة Gleying ، وبالفعل فإن الطين في هذه الحالة يحتوي علي أعداد كبيرة من البكتيريا المختزلة للحديد قد تصل إلي 10^7 في الجرام، وفي مثل هذه المواقع التي تمت دراستها وجد أن الأنواع السائدة من البكتيريا الهوائية أو اللاهوائية اختياراً المختزلة للحديد تتبع جنسى _Bacillus, Pseudomonas_ .

هناك عملية حيوية أخرى هامة بالنسبة لتحولات الحديد يمكن أن تحدث في غياب الأكسجين وهي إنتاج الكبريتيد أما من خلال معدنة كبريتات مركبات الكبريت العضوية أو عن طريق اختزال الكبريتات، الكائنات الحية الدقيقة المنتجة لكبريتيد الأيدروجين تعمل علي ترسيب الحديد في صورة كبريتيد الحديدوز بتفاعل كبريتيد الأيدروجين مع أملاح الحديد، ويمكن تمييز الميكروبات المسئولة عن ذلك بسهولة عند نموها علي بيئات الأجار الغذائية المحتوية علي لاكتات الحديد وكبريتات الأمونيوم حيث تكون المجموعات النامية محاطة بهالة داكنة من FeS . كما يترسب الحديد أيضا في البيئات الغذائية الغنية بالحديد نتيجة انطلاق الأيدروجين بفعل الميكروبات أثناء تحلل البروتين أو الجزيئات الأخرى المحتوية علي الكبريت.

تتعرض المواد المصنوعة من الحديد أو الصلب للتأكل تحت ظروف نقص الأكسجين، ويمكن أن تصل حدة التآكل إلي الدرجة التي تصبح معها المواسير الحديدية عديمة الفائدة بعد سنوات قليلة، والخسائر الاقتصادية الناجمة عن تلف المواسير المدفونة في باطن الأرض قد تصل إلي مئات الملايين من الدولارات سنوياً، ويرجع جزء علي الأقل من التلف لتأثير الكائنات الحية الدقيقة وتزداد حدة التآكل علي وجه الخصوص في الأراضي السيئة الصرف حيث تظل التربة رطبة لفترات طويلة. أضف إلي ذلك أن هناك علاقة مباشرة بين جهد الأكسدة والاختزال وحدوث التلف وشدة تأكل المواسير الحديدية تحت الظروف اللاهوائية ولا يظهر مثل هذا التأكل في الأراضي التي يصل جهد الأكسدة والاختزال فيها إلي Eh أكثر من 400 mv ، وعادة ما يكون التلف قليلا عند 200-400 mv ومتوسطاً عند 100-200mv ، بينما تزداد حدة التلف دائما في الأوساط البيئية ذات جهد الأكسدة والاختزال الأقل من 100mv.

مما لا شك فيه أن التأثير يرجع إلي فعل مجموعات البكتيريا من جنس *Desulfovibrio* المختزلة للكبريتات وهي التي تعمل علي إحداث تحولات في عنصر الحديد بترسيبه في صورة كبريتيد الحديدوز، ولما كانت هذه البكتريا من الأنواع اللاهوائية حتماً والتي تستخدم الكبريتات عند نموها كمستقبل للإلكترون، فإنه يصبح من الواضح أهمية وجود الكبريتات وانخفاض رقم Eh الوسط والظروف اللاهوائية في إحداث التغيرات.

ويعتبر مدى الحموضة المناسب لنشاط هذه البكتيريا مساوياً لنفس رقم الأس الأيدروجيني الملائم لتأكل الحديد وهو حوالى pH 5.5 أو أكثر والنتيجة النهائية للتفاعل يمكن توضيحها بالمعادلة التالية:



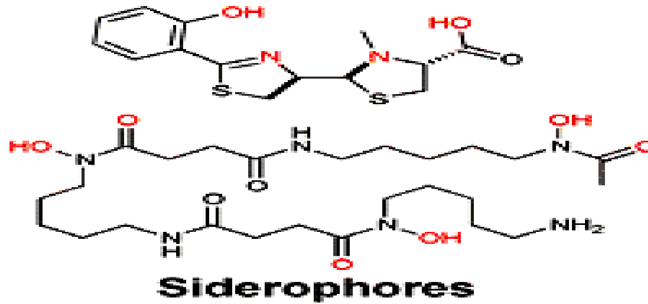
$$4Fe + SO_4^{=} + 4H_2O \longrightarrow FeS + 3Fe(OH)_2 + 2OH^-$$

حيث يتكون كبريتيد الحديدوز وأيدروكسيد الحديدوز كنواتج للتفاعل.

إنتاج مركبات السيديروفورز (حاملات الحديد)

Production of Siderophores (iron chelators)

يعتبر عنصر الحديد من أكثر العناصر من حيث دوره المحوري في تطور الحياة على الأرض, وخاصة الحديد الثلاثي وهو الأكثر انتشارا ، والمشكلة هي قلة تيسره فى التربة تحت الظروف المختلفة ، ولقد وجد أن بعض الكائنات الحية الدقيقة لها قدرة على تجميع واستخدام هذا العنصر من جزيئات منخفضة الوزن سميت مخلبيات الحديد Siderophores "حاملات الحديد" عندما تنمو في ظروف نقص الحديد ، والكثير من الميكروبات تفرز ال Siderophores بنفسها لتوفير احتياجاتها من الحديد وذلك في حالة الجوع الحديدي أي عند نقص هذا العنصر، هذا الاحتياج ضروري في وظيفته لعمل الإنزيمات التي تسهل عمليات نقل الالكترونات ، نقل الأكسجين للبقاء على قيد الحياة. ومركبات ال Siderophores هي عبارة عن مركبات ذات وزن منخفض الكتلة الجزيئية (٥٠٠-١٠٠٠ دالتون) وهي جزيئات لها قدرة عالية علي خلب Chelating الحديد.



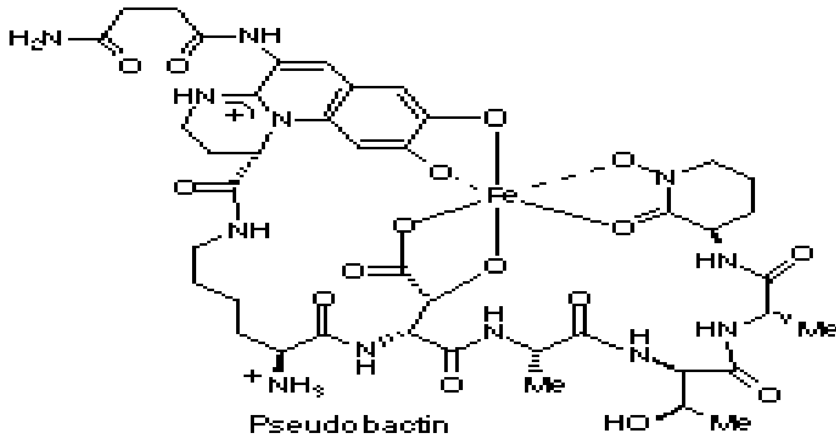
شكل ٢(٥) -٢: التركيب البنائى لـ Siderophores

وعلى الرغم من أن الحديد هو العنصر الرابع الأكثر وفرة في القشرة الأرضية إلا أنه غير ميسر للبكتيريا والكائنات الدقيقة الأخرى. والبكتيريا التي تعيش في التربة أو الماء يجب أن يكون لها ألية فى إذابة مركبات الحديد لكى توفر احتياجاتها من الحديد في البيئة التي تنمو فيها ، ويوجد معظم الحديد Intracellularly في Heme البروتينات وFerritin وهى أماكن لتخزين الحديد ، والبكتيريا التي تتطفل علي الإنسان أو الحيوان وتسبب الالتهابات أو الأمراض يجب أن تكون لها ألية لفصل الحديد من هذه البروتينات واستخدامه للحصول علي الطاقة.

غالبية البكتيريا والفطريات المنتجة لـ Siderophores تعمل علي خلب الحديد حيث يمكن استخدام مثل هذه الكائنات الدقيقة التي تنتج ال Siderophores لإحداث تنافس بينها

وبين الكائن الممرض وإيقاف نموه. ومركبات ال **Siderophores** تنتج بواسطة العديد من الكائنات الحية الدقيقة مثل البكتيريا والخميرة والفطريات ، ويمكن الحصول على الحديد من البيئة النامي عليها الميكروب, ولقد تم تحديد أكثر من ٥٠٠ نوع مختلف من الـ **Siderophores** تنتجها الكائنات الحية الدقيقة.

من المعروف أن بكتيريا ***Pseudomonas*** تنتج مجموعة من الصبغات الصفراء و الخضراء هي عبارة عن مركبات الـ **Siderophores** في منطقة **Rhizosphere** النباتات مما يحد من توافر عنصر الحديد لنمو جراثيم الفطريات الممرضة كما أن توفر الحديد في التربة مع الزيادة في الرقم الهيدروجيني ، وبالتالي يحدث نمو أفضل للنباتات بسبب حدوث ارتفاع في رقم الحموضة الخاص بالتربة. وأظهرت العديد من التجارب أن بكتيريا ***Pseudomonas*** التى تنتج الصبغات الصفراء و الخضراء في **Rhizosphere** النباتات تكبح نمو ***Erwinia caratovora*** الذي يسبب مرض العفن الطرى فى البطاطس في وجود الحديد في التربة وذلك عندما تم إضافة الحديد إلى التربة في شكل **FeEDTA (Ethylene diamine tetraacetate ferrate(** وتم تسمية هذه الصبغات بـ **'Pseudobactin'** ، وهذه النتائج تعني أن **Siderophore** **(Pseudobactin)**عمل علي حرمان ميكروب ***E. caratovora*** من الحديد في المنطقة الموجود بها وبالتالي الحد من انتشار المرض.



شكل٢(٥) -٣: مركب Pseudobactin

لتثبيط هذا الفطر في التربة التي يوجد فيها, وعندما تم تلقيح بذور الكتان مع الفطر الممرض ***Fusarium oxysporum*** وجد أن ٩٠٪ من الشتلات قد نمت ، وعلى الجانب الأخر ، في نفس التربة عندما لقحت البذور مع الفطر الممرض في وجود **FeEDTA** وجد أن ٤٧ ٪ من الشتلات قد نمت ، هذه النتائج تعكس إمكانية أن الكائنات الحية الدقيقة الموجودة في التربة

التي تنتج Siderophores والمتاحة للجذور في الوسط تعمل علي حرمان الممرضات من عنصر الحديد. ومعظم الفطريات التى تفرز حاملات الحديد والتى تسمى Iron Chelators سميت Siderophores لديها القدرة على خلب الحديد Fe^{+3} أيضا تستطيع أن تخلب عناصر أخري غير الحديد مثل الألومونيوم والنحاس.

تشير علوم الكيمياء الحيوية والتكنولوجيا الحيوية والبيئة وعلم الكائنات الحية الدقيقة في استغلال الـ Siderophores بشكل مباشر أو غير مباشرة في الزراعة والطب والصناعة والبيئة فمثلا يمكن استخدام الـ Siderophores في علاج بعض الأمراض والإصابات البشرية، وتستخدم بعض ال Siderophores العلاجية لعلاج مرض مزمن أو حاد نتيجة الحديد الزائد من أجل منع السمية الناتجة منه على الإنسان في الأفراد الذين يعانوا من قصور في إنتاج خلايا الدم.

ومركبات الـ Siderophores عادة ما تصنف من حيث قدرتها على حمل الحديد والمجموعات الرئيسية لل Siderophores تشمل Catecholates , Phenolates , Hydroxamates , Carboxylates (مثل مشتقات حمض الستريك) وحمض الستريك يمكن أيضا أن يكون بمثابة Siderophores وفيما يلى أمثله لبعض مركبات السيديروفورز والميكروبات المنتجة لها كما هو موضح فى الجدول التالى.

جدول (٢-٥-١): مركبات السيديروفورز والميكروبات المنتجة لها.

Hydroxamate siderophores

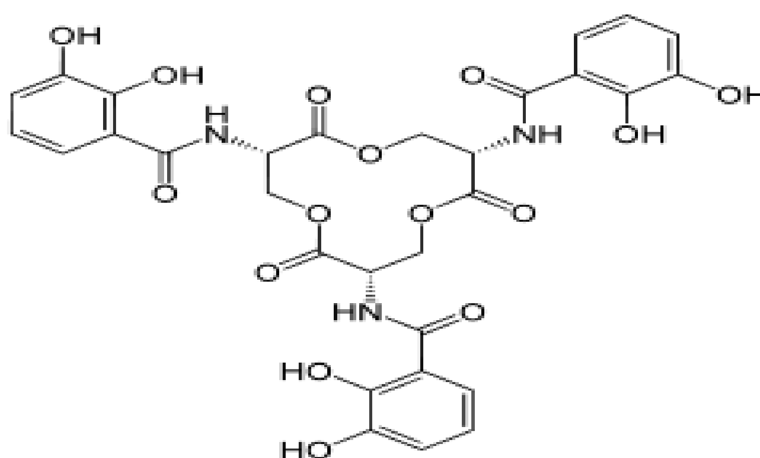
Siderophores	Organisms
Ferrichrome	*Ustilago sphaerogena*
Desferrioxamine B	*Streptomyces pilosus*
Desferrioxamine E	*Streptomyces coelicolor*
Fusarinine C	*Fusarium roseum*
Ornibactin	*Burkholderia cepacia*

Catecholate siderophores

Siderophores	Organisms
Enterobactin	*Escherichia coli*
Bacillibactin	*Bacillus subtilis*
Vibriobactin	*Vibrio cholerae*

Mixed ligands

Siderophores	Organisms
Azotobactin	*Azotobacter vinelandii*
Pyoverdine	*Pseudomonas aeruginosa*
Yersiniabactin	*Yesinia pestis*



شكل ٢(٥) –٤: مركب Enterobactin

التطبيقات الزراعية لمركبات Siderophores

١- الأنواع النباتية الهامة مثل القمح والشعير وقدرتهم على حمل الحديد عن طريق إفراز الـ Phytosiderophores عبر الجذور في التربة المحيطة بـ Rhizosphere وكذلك المركبات الكيميائية التي تنتجها الكائنات الحية الدقيقة في الـ Rhizosphere يمكنها العمل على زيادة توفر وامتصاص عنصر الحديد.

ولقد ثبت أن النباتات قادرة على استخدام Hydroxamate نوع Siderophores agrobactin ,Catechol , Ferrioxamine B ferrichrome,Rodotorulic acid Siderophores biosynthesized , Hydroxamate , Ligand catechol والتى تفرزها البكتيريا المترممة Saprophytic bacteria المستعمرة لجذور النباتات، جميع هذه المركبات التي تنتجها السلالات البكتيرية مهمة لتلبية الاحتياجات الغذائية، وتوجد في الطبيعة في التربة والمياه العذبة ومياه البحار.

٢- البكتيريا الفلوروسينتية Pseudomonads عرفت في المكافحة البيولوجية ضد بعض مسببات الأمراض النباتية عن طريق الصبغات الصفراء والخضراء التي تنتجها (Pyoverdines) التي تشع تحت ضوء الأشعة فوق البنفسجية حيث تعمل مركبات الـ Siderophores علي أن تحرم الميكروبات الممرضة من الحديد اللازم لنموها، ومن العناصر الأخرى التى يمكن أن تخلب بواسطة السيديروفورز ما يلى:

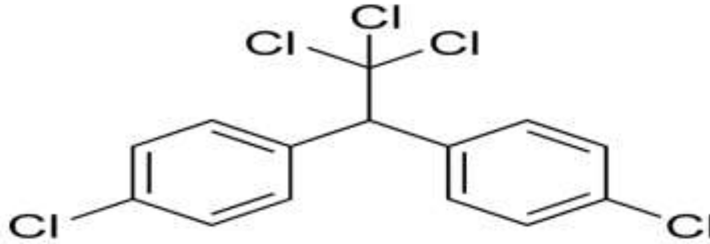
Aluminum – Calcium – Chromium – Copper – Zinc – Lead – Manganese – Cadmium – Vanadium.

(الباب الثالث-الفصل الأول)

دور الكائنات الحية الدقيقة في التخلص من بقايا المبيدات

Role of microorganisms for getting rid of pesticides residues

منذ أن اكتشف تأثير المبيد الحشري الـ DDT عام ١٩٣٩م وما تبعه من معرفة تأثير الـ 2,4-D كمبيد للحشائش، فقد بدأ استخدام الكيماويات للوقاية من الآفات بهدف زيادة الغلة الزراعية، ومع اتساع استخدام هذه المركبات اكتشف أن لها بعض التأثيرات الضارة علي الإنسان والحيوان والنبات والكائنات الدقيقة والوسط البيئي.



شكل٣ (١) -١: الشكل البنائى لمبيد DDT

وبسبب تزايد استعمال المبيدات في الزراعة الحديثة بشكل كبير لمكافحة مختلف الأفات بدأ العلماء المشتغلين بميكروبيولوجيا الأراضى ينظرون بقلق إلي هذه المواد السامة خوفاً من أثارها الضارة علي أحياء التربة وما لهذا من انعكاس ضار علي العمليات الحيوية الهامة المرتبطة بخصوبة التربة ، لذلك فلقد بدأت الدراسات تتوسع في هذا الموضوع وتتوالى لمحاولة دراسة الموضوع من جميع نواحيه، وأغلب المبيدات عبارة عن مركبات كيماوية عضوية تحتوى علي واحد أو أكثر من المركبات الحلقية أو يدخل في تركيبها ذرة أو أكثر من الهالوجينات وأحيانا الكبريت أو الفوسفور أو النيتروجين، ونظرًا لأن الأفات التي تستخدم المبيدات لمقاومتها تقع تحت مجموعات تقسيميه مختلفة ومتعددة فإن المبيدات المستعملة في مقاومتها تختلف في تركيبها ، وعموماً فإنها تسمي حسب مجموعة الكائنات التي تؤثر عليها فهناك مبيدات الحشائش Herbicides والمبيدات الحشرية Insecticides والفطرية Fungicides والنيماتودية Nematicides والبكتيرية Bactericides.

والعلاقة التي تربط ما بين المبيدات وكائنات التربة الدقيقة ذات اتجاهين:

الاتجاه الأول هو: أن الميكروبات قد تتأثر تأثرا ضارا بهذه المبيدات، وهذا يؤثر علي العمليات الحيوية التي تحدث بالتربة.

الاتجاه الثاني هو: أن الميكروبات قد تؤثر علي المبيدات وتحللها و يترتب علي هذا التحلل حدوث معدنـــة **Mineralization** للمبيـــدات أو فقـــد لســـميتها **Detoxification** أو تنشـــيط لهـــا **Activation**.

والمبيدات المستخدمة لمقاومة الأفات تتبع أقساماً عديدة من المركبات الكيماوية تختلف في طريقة تأثيرها علي الآفات ومدى أثرها علي الميكروبات ومدى قابليتها أو مقاومتها للتحلل البيولوجي وغير البيولوجي في التربة، ونظرا لأن أغلب المبيدات عبارة عن مركبات عضوية وعلي هذا فإنه إذا كان المبيد صالحاً كمصدر للغذاء لمجموعة من ميكروبات التربة فإن تحلله واختفاء أثره السام يكون سريع. وتصل مبيدات الأفات إلي التربة بأكثر من طريق فمنها ما يضاف مباشرة علي سطح التربة، أو يحقن في طبقاتها العليا، ومنها ما يستعمل رشاً علي المجموع الخضري ويصل إلي التربة مما يتساقط أثناء الرش **Spraying** أو مع الأوراق التي تتساقط أو النباتات التي تموت بالإضافة إلي أن مياه الرى تتلوث بتلك المبيدات وتنقلها إلي الحقول المجاورة. عموماً فإن طول مدة بقاء المبيد **Persistence** من الموضوعات الهامة التي لها قيمة تطبيقية كبيرة، حيث وجد أن المبيدات تختلف كثيرا في معدل تحللها فبعضها سريع التحلل وبعضها بطئ والبعض يقع في مستوي وسط، وسرعة التحلل البيولوجي للمبيد قد تكون مرغوبة **Desirable** في ظروف معينة وغير مرغوبة في ظروف أخرى، فعلي سبيل المثال فإنه عند استخدام مبيدا للحشائش شديد المقاومة للتحلل، فإن وجوده في الأرض لمدة طويلة بدون تحلل سوف يكون له أثارا سيئة على أى محصول حساس يزرع فى الأرض بعد ذلك، وبقاء المبيدات في الأرض لمدة طويلة بعد إضافتها يجعل من الممكن للنباتات والأعلاف الحيوانية التي تنمو في هذه الأرض أن تمتص كميات من هذه المبيدات وتتراكم داخلها مما قد يكون له أثار صحية غير محمودة علي من يتناول هذه النباتات وهذه النقطة قد أعطاها المشتغلون بتلوث البيئة أهمية كبيرة.

ولقـد جـاء فـي إحصـائيات منظمـة الصـحة العالميـة **World Health Organization** لعام ٢٠١٨ م ما يفيد بأن أكثر من نصف مليون شخص علي الأقل يصابون في العالم سنوياً بالتسمم بالمبيدات المستخدمة في مقاومة الأفات النباتية حيث يموت منهم عدة ألاف، ويجب أيضا أن لا يغيب عن الأذهان الأثار الخطيرة لتلوث البيئة سواء أكانت الترع أو المصارف أو الأرض أو الهواء بهذه المبيدات المقاومة للتحلل التي تبقى أثار التلوث بها لمدة طويلة ، ويوجد حالات يكون من المفيد فيها أن يكون المبيد مقاوما للتحلل لحد كبير ، مثل الظروف التي يراد فيها التخلص من النمو النباتي للحشائش لمدة طويلة في المناطق التي تقام فيها مشروعات تعيق هذه النباتات العمليات الإنشائية فيها ، وفي أحوال أخرى قد يكون من

المرغوب أن يكون للمبيد مقاومة معقولة للتحلل في حالة مقاومة بعض الأفات والتي يراد فيها أن يبقى المبيد مدة في الأرض حيث يضمن التخلص من الأفة، ولقد أصبح من المهم للمحافظة علي البيئة من التلوث دراسة الأثار الجانبية لاستخدام المبيدات ومدى مقاومتها للتحلل قبل دخول المبيد في التطبيق العملي الزراعي، وذلك حتى يمكن تلافي الأثار السيئة بإجراء تحويرات في البناء الكيماوي للمبيد تجعله أكثر قابلية Acceptability للتحلل الميكروبي ، ومثل هذه التحويرات ليست صعبة الإجراء ويمكن عملها بدون تقليل الأثر السيئ للمبيد علي الآفة التي أنتج من أجلها . ولتوضيح تأثير التغييرات التي تحدث في جزئ المبيد علي قابليته للتحلل ، لوحظ مثلا أن مركبات Dichlorobenzoate مقاومتها للتحلل الميكروبى في التربة أشد كثيرا من مركبات Monochlorobenzoate بالرغم من الاختلاف الطفيف في التركيب الجزيئى ، كما لوحظ أيضاً أن موضع المجاميع الاستبدالية علي المركب الأصلي لها أثر كبير علي قابلية المركب للتحلل ، فعلي سبيل المثال فقد لوحظ في مبيدات الحشائش التابعة لمجموعة Phenoxy herbicides مثل 2,4-D التي فيها مجاميع استبداليه من الكلور أن وجود هذه المجاميع الاستبدالية في الوضع Orthoأو Para يجعل عمرها في التربة قصيرا ، بينما إن وجدت المجموعة الاستبدالية في الوضع Meta فإنها تكون مقاومة للتحلل لمدة طويلة، وأسباب زيادة أو نقص مقاومة مركب كيماوى للتحلل نتيجة لوجود مجموعة استبداليه معينة أو موضعها علي الجزئ غير مؤكدة .

ونظرا لأن مجموعة المبيدات التابعة لقسم الهيدروكربونات الكلورونية Chlorinated hydrocarbons مثل DDT والجامكسان أبطأ في التحلل بالتربة من المبيدات التابعة لمجموعة المركبات الفوسفورية العضوية Organophosphorus compounds مثل السيترولين والدورسبان ، فقد قل استعمال المبيدات التابعة للمجموعة الأولى وزاد استعمال المبيدات التابعة للمجموعة الثانية السهلة التحلل في الأراضى والمياه .

وعموماً فقد يعزي أسباب مقاومة بعض المبيدات للتحلل البيولوجي بالنقاط التالية:

١-غياب الإنزيمات القادرة علي إحداث تغيرات في المجموعة الكيماوية التي يتبعها المبيد.

٢-قد تكون الإنزيمات القادرة علي تحليل هذه المجموعة الكيماوية موجودة ولكن وجود تحوير في تركيب جزئ المبيد يجعله غير قابل للنفاذ Penetrating خلال جدر خلايا الميكروب الذي يوجد فيه الإنزيم.

٣-قد تكون الميكروبات القادرة علي تحليل المجموعة الكيماوية التي يتبعها المبيد موجودة فعلا ولكن وجود تحوير في جزئ المبيد يجعله غير قابل للتحليل الإنزيمى ، أو

قد يكون المبيد المحور مثبطا Retardant للإنزيمات القادرة علي تحليل المجموعة الكيماوية التي يتبعها هذا المبيد ، وبغض النظر عن اختلاف المبيدات في سرعة تحللها فإن سرعة تحلل المبيد الواحد تتأثر كثيرا بالظروف البيئية المحيطة كالأتي :

الظروف اللاهوائية تؤدي إلي إطالة عمر المبيد في التربة، وقد يرجع ذلك إلي أن الإنزيمات التي تعمل علي هذه المركبات تحتاج إلي الأكسجين لعملها كما في حالة Hydrocarbon pesticides، تختلف عملية التحلل باختلاف قوام التربة ، وذلك لأن عملية إدمصاصAdsorption المبيدات علي مواد التربة الغروية يقلل من عملية التحلل الميكروبى وفاعلية إنزيماتها الخارجية. والعوامل المؤثرة علي النشاط البيولوجي في التربة عموما ينعكس أثرها علي قدرة الميكروبات علي تحليل المبيدات، والتحلل يكون أسرع في الوسط المتعادل عن الوسط الحمضى، وتركيب المجموعة الميكروبية فى التربة يعتبر عامل مؤثر أساسي علي سرعة التحلل ، ودرجة الحرارة ودرجة الرطوبة أيضاً عوامل لها تأثير كبير لما لها من أثار علي النشاط البيولوجي في التربة عموما وعلى الرغم من أن تحلل المبيدات بواسطة الميكروبات هو الغالب في الأراضي ، إلا أن هذه المبيدات قد تختفي من التربة بطرق غير بيولوجية مثل الفقد بالتطاير Volatilization أو بالغسيلLeaching مع ماء الصرف أو بالتحلل كيماويا الذي غالبا ما يكون بالتحلل المائى Hydrolysis وفيه تنتج مواد غير سامة ، ويلاحظ أن التحلل غير البيولوجى لا يؤدي إلي التكسير الكامل للمبيد أو معدنته وذلك كما يحدث في حالة التحلل البيولوجي ، وعلي ذلك فإن نواتج التحلل غير البيولوجية تتراكم بالتربة ، ويمكن دراسة التأثير البيولوجي علي المبيدات بمقارنة التغيرات التي تحدث في أرض معقمة بأخرى غير معقمة.

طرق تحلل المبيدات بواسطة ميكروبات التربة

Methods of pesticides degradation by soil microorganisms

يتم تحليل المبيدات بيولوجيا بواسطة مجموعة كبيرة من الميكروبات غير ذاتية التغذية وهذه الميكروبات توجد بوفرة في الأراضى الخصبة مثل بكتريا

Arthrobacter,Achromobacter,Flavobacterium, Klebsiella,Pseudomonas,Xanthomonas, Corynebacterium, Bacillus and Clostridium.

ومن الأكتينوبكتريا *Streptomyces and Micromonospora* ومن الفطريات *Alternaria, Aspergillus, Cladosporium, Fusarium, Mucor, Penicillium and Trichoderma.*

والأنواع القادرة علي التحليل تختلف حسب نوع المبيد تحت الدراسة، فقد وجد أنه عندما يضاف مبيد الحشائش 2,4-D إلي التربة فإن جزءا من ميكروبات التربة وأغلبها بكتريا ينشط في أكسدة هذا المبيد. ولقد اتضح أن تحلل هذا المبيد يتم بطريقة بيولوجية بدليل أن هذا المبيد يبقى في التربة المعقمة لمدة طويلة، ويختلف الوقت اللازم لتحلل المبيد واختفاء السمية Toxicityمن التربة الطبيعية حسب الظروف البيئية والخواص الطبيعية والكيماوية واختلاف المجموعة الميكروبية السائدة في التربة ، وعموماً يتطلب المبيد المضاف للتربة بالمستوي الحقلي العادي من ٢-٨ أسابيع لاختفاء السمية ، وأهم العوامل التي تحدد سرعة التحلل هي درجة الحرارة – قوام التربة – الرطوبة – pH ، وعلي العموم فإن العمليات الزراعية التي تزيد النشاط البيولوجي تسرع من تحلل المبيدات. ومن أنواع البكتريا القادرة علي تحليل هذا المبيد (2,4-D) تتضمن أنواعا تابعة للأجناس الأتية:

Arthrobacter, Achromobacter , Corynebacterium **and *Flavobacterium.***

وتتضمن التغيرات الميكروبية تحلل السلاسل الجانبية علي الجزئ ، نزع ذرات الكلور Dechlorination كما تتضمن كسر الأنوية العطرية.

أوضحت الدراسات أن ميكروبات *Pseudomonas* and *Nocarida* قادرة علي تحليل مركبات Chlorinated fatty acids ، وأن *Flavobacterium* يحلل Phenoxy herbicides كما تبين أن الميكروبات القادرة علي تحليل المبيدات التابعة لهذه المجموعة تتضمن ميكانيكية التحلل فيها كسر رابطة الإستر في المركب ، ومثل هذا التحلل يؤدي بالتالى إلي إخراج الأحماض الدهنية الداخلة في تركيب السلسلة الجانبية في تركيب جزئ المبيد مثل إنتاج حمض الخليك أو البروبيونيك، بينما لوحظ في دراسات أخرى أن تحلل المبيد يتم بطريقة الـ -β odixation وهذه العملية تؤدي إلي إزالة وحدات من ذرتي كربون من طرف السلسلة الجانبية للمركب.

ولقد أجريت دراسات أضيفت فيها عدد من مركبات Phenoxy compounds إلي التربة ودرست النواتج المتكونة، وأظهرت هذه الدراسات أن عملية التحلل تتم أساسا عن طريق -β oxidation وأوضحت الدراسات أنه في الأراضى المعاملة بمبيدات الحشائش أمكن عزل سلالة من *Arthrobacter* لها قدرة علي تحليل عديد من هذه المركبات وأن هذا الميكروب قادر علي كسر حلقة البنزين ولم يلاحظ أكسدة لهذه المركبات بواسطة هذا الميكروب، وتقوم بكتريا مثل *Pseudomonas, Flavobacterium* and *Bacillus* بتحليل مبيد Parathion وهو مبيد

حشرى من نوع المركبات الفوسفورية العضوية ، ويحدث تحلل هذا المبيد حتى في الأراضى المغمورة والمنزرعة أرزا وذلك بالتحلل المائى للمبيد بواسطة بكتريا ***Pseudomonas*** مع إنتاج **P–nitrophenol** أو باختزال مجموعة النيترو إلي نيتريت بواسطة بكتريا ***Bacillus*** ، ويجب أن نلاحظ أن تأثير الميكروبات علي المبيدات ليس دائما في صالح تقليل سمية المبيد أو إزالتها ، ففي بعض الأحوال قد يؤدي النشاط الميكروبى إلي زيادة سميته.

تمثيل المبيدات **Metabolism of pesticides**

عند تحلل المبيدات بواسطة الميكروبات فى التربة يحدث واحد أو أكثر من أنواع التفاعلات الأتية:

١) التحلل **Degradation**: وفيها يتحلل المركب المعقد التركيب إلي نواتج بسيطة التركيب، وفي هذه الحالة يحدث غالبا معدنة للمبيد **Mineralization**.

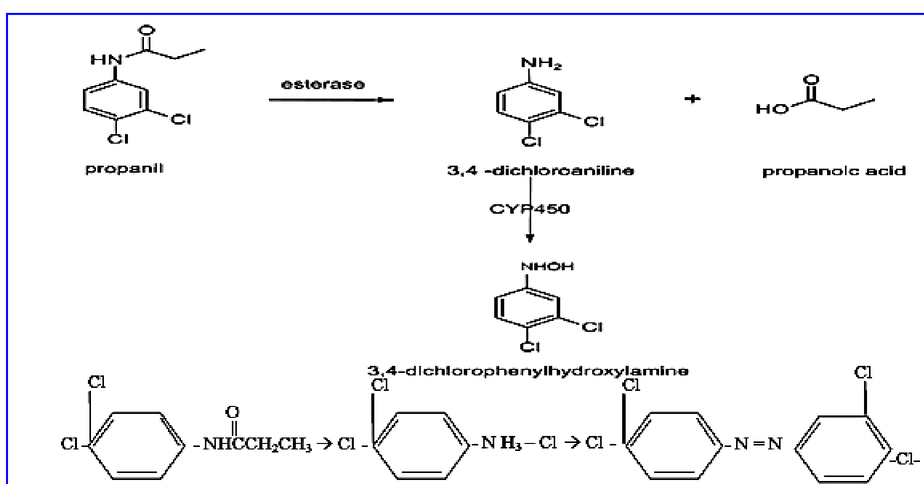
وتتكون نواتج مثل H_2O,CO_2 بالإضافة إلي CH_4,NH_3 وكلور إذا كان المبيد يحتوى علي نيتروجين وكلور.

٢) إزالة السمية **Detoxification**: وذلك بإزالة المجاميع السامة التي بالمبيد وبذلك يصبح المبيد غير سام.

٣) التنشيط **Activation** : وفيها يتحول المركب الأصلي للمبيد غير السام إلي مركب سام بفعل الميكروبات والناتج هو المبيد الحقيقي وذلك كما يحدث في حالة تنشيط مبيد الحشائش (2,4–D B) إلي 2,4–D وكذلك في تنشيط مبيد الحشرات **Phorate** .

٤) **Additive reactions** تفاعلات إضافة: وفيها يحول الميكروب المركب البسيط إلي مركب أكثر تعقيدًا بإضافة مجموعات كيماوية من نواتج التمثيل الغذائى إليه مثل إضافة مجموعة ميثيل، مجموعة من حمض أميني أو حمض عضوي أو إحداث بلمرة للمركبات الحلقية كما يحدث في حالة مبيد الحشائش المسمى **Propanil** حيث تتكثف الحلقة إلي حلقتين كمايلى:





شكل٣ (١) –٢: خطوات تحلل مبيد **Propanil**

٥) **Defusing** وفيها يتحول المركب غير السام (الذي يمكن أن يتحول بالتنشيط إلي مركب سام) إلي ناتج غير سام ولا يتأثر بعد ذلك بعملية التنشيط إذا ما تعرض لها.

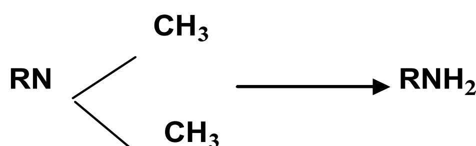
٦) تغير مدي السمية **Changing the spectrum of toxicity** وفيها يتحول المبيد السام لمجموعة معينة من الأفات إلي مبيد سام لأكثر من مجموعة من الكائنات ، وذلك كما يحدث في حالة مبيد الفطريات المسمي **Penta chloro–benzyl alcohol** الذي يتحول إلي **Chlorinated benzoic acid** الذي يقتل النباتات أيضاً.

وتحلل الميكروبات المبيدات بطرق متعددة وتمثل التفاعلات التالية الخطوات الأولى في تمثيل المبيد:

١) إضافة مجموعة هيدروكسيل



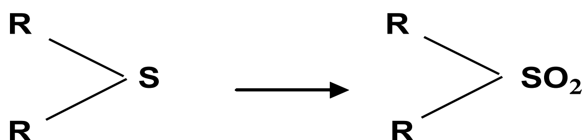
٢) إزالة أو إضافة مجموعة ميثيل أو أكثر وهذه التفاعلات كثيرة الحدوث في المبيدات.



٣) إزالة الكلور وبذلك تزول سمية المركب ويحل محل الكلور ذرة أيدروجين أو مجموعة أيدروكسيل



٤) أكسدة الكبريت



٥) اختزال مجموعة النيترو لتصبح أمين



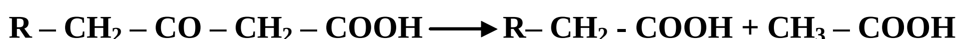
وقد تستبدل مجموعة النيترو بمجموعة أيدروكسيل



٦) تحلل السلسلة الجانبية المتصلة بالحلقة العطرية أو كسر رابطة الإستر

ويسبق هذا التفاعل كسر النواة العطرية، والحمض الدهني الناتج يتحلل بطريقة β- oxidation مع إنتاج حمض الخليك وهذا التحلل يؤدي إلي إزالة وحدات من ذرتين كربون من طرف السلسلة الجانبية للمركب في كل خطوة.





٧) التحلل المائى لجزئ المبيد



٨) كسر النواة العطرية

يتطلب كسر النواة العطرية للمبيد إضافة أكسجين الهواء الجوي ، وتنتج من الأكسدة مركبات مثل حمض الخليك والبيروفيك والسكسنيك والفيوماريك والأسيتالدهيد ، وفي حالة غياب أكسجين الهواء الجوي أى تحت الظروف اللاهوائية فإن المركبات العطرية تظل متراكمة بالتربة.

(الباب الثالث–الفصل الثانى)

المخصبات (الأسمدة) الحيوية Biofertilizers

كثر الحديث في الفترة الأخيرة عن أهمية استخدام التسميد الحيوي لحماية البيئة والحفاظ علي صحة الإنسان والحيوان والعودة إلى ما يطلق عليه بالزراعة الأمنة**Safety agriculture** بعيدًا عن استخدام الكيماويات والعمل علي إنتاج أغذية خالية من الملوثات **Pollutants** ، خاصة وأننا سوف نواجه رفضاً عالمياً لمنتجاتنا الزراعية إذا وجد بها بقايا كيماوية **Chemical residues** ، لذلك يجب معرفة هذه المخصبات الحيوية وفوائدها وميكانيكية عملها والجدوي الاقتصادية **Economic feasibility** من استخدام التسميد الحيوي والمخصبات الزراعية الأمنة ، والمخصبات الحيوية هي الإضافات ذات الأصل الحيوي التى تلقح بها الأرض أو بذور النباتات بغرض تحسين الخواص الحيوية للتربة وتشجيع نمو وإثمار النباتات حيث تسهل للنبات النامي احتياجاته الغذائية أو مقاومة ظروف بيئية معينة وتسمى هذه الإضافات باللقاحات البكتيرية **Bacterial inocula** أو المخصبات الحيوية **Biofertilizers** وهي متخصصة حسب نوع النباتات ونوعية العنصر الغذائي المراد تيسيره للنبات، وبالإضافة إلي أن اللقاحات الميكروبية تؤدي إلي إمداد النبات باحتياجاته الغذائية سواء من النيتروجين أو الفوسفور أو البوتاسيوم من خلال عملية تثبيت الأزوت أو إذابة كلا من الفوسفات العضوية والمعدنية أو معادن الطين السليكاتية مثل البيوتيت والأورثوكلاز فإن هذه اللقاحات لها فوائد أخري مثل:

١- إفراز الكثير منها لبعض المواد المنشطة للنمو مثل الأوكسينات والجبريللينات والسيتوكينينات.
٢- تفرز الكثير من المضادات الفطرية والتي تقلل من نسبة الإصابة بأمراض أعفان الجذور أو الذبول لبعض النباتات، مما ينعكس علي نمو النبات وزيادة المحصول وتحول العناصر من صورها الغير ميسرة الي الصورة الميسرة مثل (الفوسفور العضوي إلي الفوسفور المعدني) الجاهز للنبات. والتسميد الحيوى هو استخدام الأنواع المفيدة من الكائنات الحية الدقيقة كمخصب حيوي حيث تساعد علي إمداد النبات باحتياجاته الغذائية وذلك عن طريق تحضير اللقاحات الميكروبية وإضافتها للتربة أو خلطها بتقاوي المحاصيل المختلفة.

ويعتمد نجاح التسميد الحيوى علي ما يلي:

١ – كفاءة الميكروبات المستخدمة.
٢ –مدي توافق الكائنات الدقيقة مع العائل.
٣ – القدرة التنافسية للكائنات الموجودة بصورة طبيعية في التربة.
٤ – أعداد الكائنات الدقيقة في المنطقة المحيطة بجذور العائل.

إنتاج المخصبات الحيوية Production of biofertilizers

يتم إنتاج المخصبات الحيوية بعد اختيار الميكروب المناسب للغرض الذي سيتم إكثاره وإنتاجه من أجله، حيث يتم تنمية الميكروب علي البيئة المناسبة، ثم ينقل لحامل مناسب وذلك تحت ظروف تعقيم جيدة لمنع تلوثه بميكروبات أخري قد تكون منافسه أو مضادة مما لا يحقق الغرض المرجو منه، ويتم حفظ المنتج في ظروف مناسبة وملائمة لحين استخدامه كلقاح للتربة أو للبذور.

وتعتمد فكرة إنتاج المخصبات الحيوية علي أن التربة الزراعية مليئة بالميكروبات النافعةBeneficial microorganisms والتي تعمل على زيادة خصوبتها وتساعد في تحليل المواد المعقدة بها وإمداد النبات بالعناصر الناتجة في صورها الميسرة والصالحة للامتصاص.

ويتم إضافة المخصب الحيوي بثلاث طرق هى:

١-تلقيح التقاوي حسب الإرشادات الموضحة علي المخصب ويتم ذلك بوضع التقاوي في وعاء أو فردها علي السطح ثم يضاف إليها محلول صمغي ثم تخلط محتويات المخصب مع البذور ثم تترك لتجف هوائياً، بعدها يتم الزراعة والرى مباشرة.

٢-يخلط المخصب مع كمية من الرمل أو التربة تكفي لنثرها في المساحة المراد زراعتها، حيث توضع فى الظل وتقلب مع الطبقة السطحية وتروي الأرض مباشرة.

٣-يضاف المخصب بصورة سائلة حيث ترش به النباتات أو التربة.

وقد أظهرت النتائج أن تلقيح البذور أفضل وأن إضافة الأسمدة العضوية (الكمبوست) مع التلقيح يساعد علي زياد نشاط الميكروب المستخدم في المخصب الحيوى، ولقد أمكن استغلال مقدرة بعض الكائنات الحية الدقيقة في تثبيت أزوت الهواء الجوي سواء لا تكافلياً أو تكافلياً في إنتاج ما يسمي بالمخصبات الحيوية Biofertilizers ، حيث تعتبر المخصبات الحيوية مصادر غذائية للنبات رخيص الثمن إذا ما قورنت بالأسمدة الكيماوية خاصة بعد الارتفاع العالمي في أسعار الأسمدة الكيماوية سواء النيتروجينية أو الفوسفاتية ، كذلك تعتبر المخصبات الحيوية أحد البدائل التي يمكن استخدامها في مجال تغذية النباتات للحد من استخدام الأسمدة الكيماوية والتي يؤدي استخدامها إلي تلوث البيئة المائية أو الأرضية. كذلك يؤدي استخدام المخصبات الحيوية في الإنتاج الزراعي إلي التوسع في مجال الزراعة الحيوية (النظيفة) Bio-organic farming وهذا يؤدي إلي الحصول علي منتج زراعي خالي من المواد الكيماوية الضارة لصحة الإنسان مما يؤدي إلي زيادة التصدير إلي الدول الأخري خاصة وأن المستهلك يفضل المنتج الزراعي الناتج من الزراعة الحيوية.

أنواع المخصبات الحيوية Types of biofertilizers

يوجد العديد من المخصبات الحيوية التى تنتج حاليا والتى تضاف نثرا أو مخلوطة مع التربة أو مع بذور النبات المنزرع إلى التربة ومنها المخصبات العامة التى تضاف لأى محصول مثل الفوسفورين الذى يحول الفوسفات العضوى والمعدنى من صورتهما غير الصالحة إلى صورة ميسرة للنبات أو المخصبات المتخصصة لمحاصيل معينة كالمخصب المحتوى على السيانوبكتريا والذى يضاف فقط للأرز واستخدم مثل هذه المخصبات الحيوية يعمل على رفع كفاءة إنتاجية الفدان مع ضمان إنتاج محاصيل خالية من المتبقيات السامة للكيماويات مما يجعلها أمنة للإنسان والحيوان على السواء.

جدول (٣-٢-١): ميكانيكيات تأثير الأسمدة الحيوية

السماد الحيوي	ميكانيكية التأثير
١- بكتريا العقد الجذرية *Frankia ,Rhizobium*	- تثبيت أزوت الهواء الجوي - إنتاج منشطات النمو
٢- البكتريا المثبتة للأزوت بصورة حرة *Azotobacter, Azospirillum*	- تثبيت أزوت الهواء الجوي - إنتاج منشطات النمو - الحماية من المسببات المرضية
٣- (السيانوبكتريا) Caynobacteria	- تثبيت أزوت الهواء الجوي - إنتاج منشطات النمو
٤- الأزولا *Azolla*	- تثبيت أزوت الهواء الجوي
٥- مذيبات الفوسفات البكتيرية Phosphat dissolving bacteria	- إنتاج أحماض عضوية - إنتاج منشطات النمو - الحماية من المسببات المرضية
٦- فطريات الميكوريزا Mycorrhizae	- زيادة امتصاص العناصر الغذائية - زيادة المقاومة للجفاف - الحماية من المسببات المرضية

٧- بكتريا السليكات	- إنتاج أحماض عضوية
٨- بكتريا السيدوموناس	- إنتاج مخلبيات الحديد
٩- الخميرة Yeast	- إنتاج منشطات النمو

أنواع اللقاحات الميكروبية Types of microbial inocula

أولا: اللقاحات الميكروبية المثبتة لأزوت الهواء الجوي ومنها:

١- لقاح الأزوتوباكترين Azotobacterin inoculum

هذا اللقاح يحتوي علي سلالات فعالة من البكتريا المثبتة لأزوت الهواء الجوي والتي تعيش في صورة حرة فى التربة وهذه البكتريا تنتمي إلي جنس *Azotobacter* ويفضل استخدام هذا اللقاح مع محاصيل الخضر والفاكهة ومحاصيل الحقل غير البقولية وتستخدم بيئة أشبى فى إعداد لقاح الأزوتوباكتر والتى تتكون المواد التالية(جم/ لتر) من:

سكروز أو مانيتول١٠ جم، فوسفات بوتاسيوم ثنائية ١ جم، كبريتات ماغنسيوم مائية٥,جم ،كبريتات أمونيوم٢, جم، كلوريد صوديوم ٥, جم، كبريتات حديدوز ١,جم، كربونات كالسيوم٢ ,جم ، ماء مقطر١لتر، pH ٧ - ٢, ٧.

وفيما يلى خطوات إعداد لقاح الأزوتوباكتر:

أ- يتم تنمية Stock culture لسلالة *Azotobacter chroococcum* لإعداد البادئ فى دوارق سعة ٢٥٠مللى لتر تحتوى كل منها على ١٠٠مللى لتر من بيئة أشبى السائلة.

ب- تنقل المزارع (البادئ) بعد ذلك إلى زجاجات أكبر حجما بها نفس البيئة.

ج- إعداد اللقاح ويتم ذلك بتنمية البادئ فى مخمرات سعة ٤٥ لتر يوجد بها بيئة أشبى السائلة على درجة حرارة ٣٠ °م لمدة ٥أيام ، وبعد انتهاء فترة التحضين يتم تلقيح مخمرات أكبر فى الحجم سعة ٥٠٠ لتر أو أكثر يوجد بها نفس البيئة السابقة بإستخدام سائل التخمير الناتج من المخمرات سعة ٤٥ لتر ويتم التحضين على درجة حرارة ٣٠ °م لمدة ٧٢ ساعة أخرى.

د- تحميل اللقاح على حامل مناسب، ومن أهم الحوامل التى تستخدم فى هذا الغرض البيتموس أو الفرميكيوليت أو الكمبوست.

هـ- يفرد الحامل المشبع بالميكروب على صوانى ويترك فى حجرة معقمة لمدة ٤٨ ساعة على درجة حرارة ٣٠ ° م.

و- إعداد اللقاح وتعبئته حيث يتم ذلك بتعبئة اللقاح بعد تحميله على الحامل المناسب فى أكياس من البولى إيثلين ثم يضبط المحتوى الرطوبى عند ٤٠٪ على أساس الوزن الرطب، بعد ذلك يتم غلق الأكياس جيدا عن طريق لحام أطرافها بالحرارة ثم تخزن على درجة حرارة ٤ ° م لحين الاستخدام.

ز- يستخدم اللقاح فى تلقيح البذور أو الشتلات أو التربة.

٢- لقاح يحتوي علي ميكروب *Paenibacillus polymyxa*

هذا اللقاح فعال جدا مع محاصيل الخضر ومحاصيل الحقل غير البقولية ويتميز هذا الميكروب بأن له القدرة علي وقف نشاط الكثير من الكائنات الحية الدقيقة المرضية بجانب دوره في تثبيت الأزوت.

٣- لقــاح السيرياليـن Cerealine inoculum

هذا اللقاح يحتـوي علي سـلالات فعالـة لميكروبـات *Azospirillum brasilense &* *Azospirillum lipoferum* وهذا النوع من اللقاحات يفضل استخدامه مع محاصيل الحبوب مثل الذرة والقمح والشعير أو الأرز ومحاصيل الخضر وتستخدم بيئة Doberiner فى إعداد لقاح الأزوسبيريللام والتى تتكون من المواد التالية (جم/ لتر):

حمض ماليك (٥ جم) ،هيدروكسيد بوتاسيوم (٤ جم)، فوسفات بوتاسيوم ثنائية (0.5 جم) ، كبريتات ماغنسيوم مائية (0.1 جم)، كبريتات أمونيوم (0.5 جم) ، كلوريد صوديوم (0.2 جم) ، كبريتات حديدوز (0.05 جم) ، كبريتات منجنيز (0.01 جم)، كلوريد كالسيوم (0.01 جم) ، مولبيدات صوديوم (0.002 جم) ، بروموثيمول بلو (٢ مل من محلول كحولى من الدليل تركيزه ٠,٥٪)، أجار (1.75 جم) ،ماء مقطر ١ لتر،pH 6.8-7.0.

وفيما يلى خطوات إعداد لقاح الأزوسبيريللام:

أ- يتم تنمية Stock culture لسلالتى *Azospirillum lipoferum* *Azospirillum brasilense*& وذلك لإعداد البادئ فى دوارق سعة ٢٥٠ مللى لتر تحتوى كل منها على١٠٠مللى لتر من بيئة Doberiner السائلة.

ب- تنقل المزارع (البادئ) بعد ذلك إلى زجاجات أكبر حجما بها نفس البيئة.

ج- إعداد اللقاح ويتم ذلك بتنمية البادئ فى مخمرات سعة ٤٥ لتر يوجد بها بيئة Doberiner السائلة على درجة حرارة ٣٠ ° م لمدة ٥أيام ,وبعد انتهاء فترة التحضين يتم تلقيح مخمرات أكبر

فى الحجم سعة ٥٠٠ لتر أو أكثر يوجد بها نفس البيئة السابقة باستخدام سائل التخمير الناتج من المخمرات سعة ٤٥ لتر ويتم التحضين على درجة حرارة ٣٠ °م لمدة ٥ أيام أخرى.

د- تحميل اللقاح على حامل مناسب، ومن أهم الحوامل التى تستخدم فى هذا الغرض البيتموس أو الفرميكيوليت أو الكمبوست.

هـ- يفرد الحامل المشبع بالميكروب على صوانى ويترك فى حجرة معقمة لمدة ٤٨ ساعة على درجة حرارة ٣٠ °م.

و- إعداد اللقاح وتعبئته بعد تحميله على الحامل المناسب فى أكياس من البولى إيثلين ثم يضبط المحتوى الرطوبى عند ٤٠٪ على أساس الوزن الرطب ، بعد ذلك يتم غلق الأكياس جيدا عن طريق لحام أطرافها بالحرارة ثم تخزن على درجة حرارة ٤ °م لحين الاستخدام.

ز- يستخدم اللقاح فى تلقيح البذور أو الشتلات أو التربة.

٤- لقاح السيانوبكتريا

يحتوي علي سلالات من السيانوبكتريا المثبتة للأزوت لا تكافلياً ويستخدم هذا اللقاح بكثرة في حقول الأرز لتوفر ظروف البيئة المائية والتي تناسب نمو الطحالب الخضراء المزرقة.

وفيما يلى خطوات إعداد لقاح السيانوبكتريا:

أ- يتم تنمية ال Stock culture لإعداد البادئ فى الضوء فى دوارق سعة ٢٥٠مللى لتر تحتوى كل منها على ١٠٠مللى لترمن بيئة Fogg,s الخالية من النيتروجين.

ب- تنقل المزارع بعد ذلك إلى زجاجات أكبر حجما بها نفس البيئة.

ج-تنقل المزارع (البادئ) بعد ذلك إلى أحواض مصنوعة من الحديد المجلفن لإعداد اللقاح الذي سينقل للحقل.

د-يوضع فى كل حوض ١٠ كجم تربة وتخلط جيدا مع ٢٠٠ جم سوبر فوسفات ثم يضاف الماء بعمق ١٠-١٥ سم.

هـ- يتم نثر مزرعة السيانوبكتريا المعدة سابقا (البادئ) على سطح الماء وتترك معرضه للشمس.

و- تترك السيانوبكتريا تنمو لمدة ١٠أيام لتكون طبقة سميكة من النمو ويمكن تزويد الماء إذا لزم الأمر حتى انتهاء فترة النمو.

ز- بعد ذلك تقطع طبقة النمو إلى رقائق، ثم تجمع رقائق السيانوبكتريا بعد جفافها وتعبأ فى أكياس وتحفظ لحين استخدامها فى تلقيح الحقول المزروعة بالأرز.

ح- تملأ الأحواض مرة أخرى بالماء ثم يضاف كميات صغيره من رقائق السيانوبكتريا المجففة كلقاح وتترك ١٠أيام تحت نفس الظروف السابقة وتستمر عملية إعداد وتجهيز اللقاح كما سبق.

ومما هو جدير بالذكر أن استخدام ١٠٠ جم من السيانوبكتريا للفدان وقت شتل الأرز توفر ثلث إلى نصف كمية النيتروجين اللازم لمحصول الأرز، ولقد وجد أن تنمية السيانوبكتريا فى مساحة فدان تعطى كميه من اللقاح تكفي لتلقيح مساحة ٥٠ ألف فدان من الأرز.

٥- لقــاح الأزولا Azolla inoculum

يمكن تنمية الأزولا بنجاح في مزارع مائية مناسبة لاستخدامها كلقاح في مزارع الأرز. ويمكن تنمية الأزولا لاستخدامها كسماد أخضر يضاف لحقول الأرز فى أحواض صغيرة، ثم تنقل بعد ذلك إلى حقول الأرز حيث تضاف أو تخلط بالتربة قبل شتل الأرز، أو تنمى الأزولا كنبات محمل على الأرز وذلك بنشرها على سطح الماء فى حقول الأرز وبعد نموها تترك لتتحلل وينطلق مابها من نيتروجين يمتص بواسطة نباتات الأرز.

٦- لقــاح الفرانكيــا Frankia inoculum

هذا اللقاح يستخدم كميكروبات مثبتة للأزوت مع النباتات غير البقولية وخصوصاً الأشجار.

٧-لقاحات الريزوبيــا Rhizobia inocula

تستخدم لقاحات الريزوبيــا بكثرة لتلقيح النباتات البقولية والتي تعرف تجارياً بالعقدين ويوجد منها عدة لقاحات علي حسب نوع النبات البقولي وتستخدم بيئة مستخلص الخميرة والمانيتول فى إعداد لقاح الريزوبيــا والتى تتكون من المواد التالية (جم / لتر) :

مستخلص خميرة١جم ، مانيتول١٠جم ، فوسفات بوتاسيوم ثنائية ٥, جم، كلوريد صوديوم١ ,جم، كبريتات ماغنسيوم مائية ٢, جم، كبريتات أمونيوم ٢, جم ، ماء مقطر ١ لتر، pH ٦.٥ -٧ .

ويتم إنتاج لقاحات الريزوبيا فى الخطوات التالية:

أ-اختيار سلالات الريزوبيا الفعالة.

ب-إعداد البادئ على البيئة المتخصصة وهى بيئة مستخلص الخميرة والمانيتول.

ج-إعداد اللقاح وذلك بتنمية البادئ فى مخمرات سعة ٤٥ لتر يوجد بها بيئة مستخلص الخميرة والمانيتول السائلة على درجة حرارة ٢٧ ° م لمدة ٧٢ ساعة، وبعد انتهاء فترة التحضين يتم تلقيح مخمرات أكبر فى الحجم سعة ١٠٠٠لتر أو أكثر يوجد بها نفس البيئة السابقة باستخدام سائل التخمير الناتج من المخمرات سعة ٤٥ لتر ويتم التحضين على درجة حرارة ٢٧ ° م لمدة ٧٢ ساعة أخرى.

د-تحميل اللقاح على حامل مناسب، ومن أهم الحوامل التى تستخدم فى هذا الغرض البيتموس أو الفرميكيوليت أو الكمبوست.

هـ-يفرد الحامل المشبع بالميكروب على صوانى ويترك فى حجرة معقمة لمدة ٤٨ ساعة على درجة حرارة ٣٠ ° م .

و-إعداد اللقاح وتعبئته حيث يتم ذلك بتعبئة اللقاح بعد تحميله على الحامل المناسب فى أكياس من البولى إيثلين ثم يضبط المحتوى الرطوبى عند ٤٠-٥٠٪ على أساس الوزن الرطب، بعد ذلك يتم غلق الأكياس جيدا عن طريق لحام أطرافها بالحرارة ثم تخزن على درجة حرارة ٤ ° م لحين الاستخدام.

ز-يستخدم اللقاح فى تلقيح البذور أو التربة.

اللقاحات المذيبة للفوسفات Phosphate solubilizing inocula

تحتوي هذه اللقاحات علي ميكروبات مذيبة للمركبات الفوسفاتية حيث تفرز هذه الكائنات الحية الدقيقة أحماض عضوية تعمل علي إذابة فوسفات ثلاثي الكالسيوم
(الصخر الفوسفاتي) الغير ميسر لامتصاص النباتات إلي فوسفات أحادي الكالسيوم الميسر للنبات ومن أهم أنواع هذه المخصبات :

١ - الفوسفوباكترين Phospobacterine

يحتوي هذا اللقاح علي بكتريا *B.megaterium* var *.phosphaticum* وهذا الميكروب ذو كفاءة عالية في إذابة الفوسفات غير الذائبة بالتربة ، ويستخدم هذا اللقاح مع معظم المحاصيل وتستخدم بيئة بونت وروفيرا المعدلة فى إعداد لقاح البكتريا المذيبة للفوسفات والتى تتكون من المواد التالية(جم/ لتر):

جلوكوز ١٠ جم، فوسفات كالسيوم ثلاثية ٥ جم، كبريتات ماغنسيوم مائية ١ , جم ،كبريتات منجنيز ٠٠١, جم ،كبريتات أمونيوم ٢, جم ،كبريتات حديدوز ١,جم، كلوريد بوتاسيوم٢,جم، مستخلص خميرة ٥, جم ، pH ٧- ٧.٢ ، ماء مقطر١ لتر.

وفيما يلى خطوات إعداد لقاح البكتريا المذيبة للفوسفات:

أ- يتم تنمية ال Stock culture لسلالة *B. megaterium* var. *phosphaticum* لإعداد البادئ فى دوارق سعة ٢٥٠مللى لتر تحتوى كل منها على ١٠٠مللى لتر من بيئة بونت وروفيرا المعدلة السائلة .

ب- ينقل البادئ بعد ذلك إلى زجاجات أكبر حجما بها نفس البيئة.

ج- إعداد اللقاح ويتم ذلك بتنمية البادئ فى مخمرات سعة ٤٥ لتر يوجد بها بيئة بونت وروفيرا المعدلة السائلة على درجة حرارة ٣٠ ° م لمدة ٥أيام، وبعد انتهاء فترة التحضين يتم تلقيح مخمرات أكبر فى الحجم سعة ٥٠٠ لتر أو أكثر يوجد بها نفس البيئة السابقة باستخدام سائل

التخمير الناتج من المخمرات سعة ٤٥ لتر ويتم التحضين على درجة حرارة ٣٠ ° م لمدة ٧٢ ساعة أخرى.

د- تحميل اللقاح على حامل مناسب، ومن أهم الحوامل التى تستخدم فى هذا الغرض البيتموس أو الفرميكيوليت أو الكمبوست.

هـ-يفرد الحامل المشبع بالميكروب على صوانى ويترك فى حجرة معقمة لمدة ٤٨ ساعة على درجة حرارة ٣٠ ° م.

و- إعداد اللقاح وتعبئته حيث يتم ذلك بتعبئة اللقاح بعد تحميله على الحامل المناسب فى أكياس من البولى إيثلين ثم يضبط المحتوى الرطوبى عند ٤٠٪ على أساس الوزن الرطب، بعد ذلك يتم غلق الأكياس جيدا عن طريق لحام أطرافها بالحرارة ثم تخزن على درجة حرارة ٤ ° م لحين الاستخدام.

ز- يستخدم اللقاح فى تلقيح البذور أو الشتلات أو التربة.

٢- لقاح الميكوريزا Mycorrhizae inoculum

هذا اللقاح يفيد الكثير من المحاصيل التي تزرع في المناطق الاستوائية أو شبه الاستوائية والتي تعاني من عدم تيسر الفوسفور به ، تمثل هذه الفطريات حالة تعاون فريدة بين جذور النباتات وتقوم بعمل الشعيرات الجذرية للعائل وتقوم بامتصاص الماء والغذاء والأملاح المعدنية مثل الفوسفور والكالسيوم والعناصر المغذية الصغرى مثل الحديد والنحاس وهذه الفطريات تزيد من تيسر الفوسفور والعناصر الأخرى للنبات وذلك نتيجة لإفرازها إنزيم الفوسفاتيز أو تشجيعها لجذور العائل لإفراز الأحماض العضوية وثاني أكسيد الكربون والتي تزيد من ذوبان الفوسفات الصخري، ومن أهم السلالات التى تستخدم كلقاح تحت ظروف الأراضى المصرية الأنواع التى تنتمى إلى الأجناس الأتية:

Sclerocystis, Glomus and Gigaspora

خطوات إعداد لقاح الميكوريزا

أ- يتم تلقيح شتلات البصل أو بادرات الذرة بأحد سلالات الميكوريزا ويمكن استخدام أكثر من سلالة فى التلقيح.

ب- تترك هذه النباتات لتنمو لمدة ٦٠ يوما وفى هذه المدة يحدث تكاثر لهذه الفطريات حول الجذور.

ج- بعد ذلك يتم نزع المجموع الجذرى ثم تقص الجذور وتؤخذ الجذور وما عليها من تربة للحصول على جراثيم الميكوريزا وذلك باستخلاصها بطريقة الغربلة المبتلة حيث يتم استخلاص الجراثيم والحصول عليها كمايلى:

١- يؤخذ ١-٢ كجم من التربة القريبة من الجذور وتوضع فى إناء من البلاستيك ويملأ بالماء مع تقليب التربة جيدا.

٢- تترك التربة عدة دقائق لكى ترسب حبيبات التربة الكبيرة والبقايا النباتية فى قاع الإناء.

٣- يؤخذ الجزء الطافى ويمرر على مجموعه من المناخل تتراوح أحجام فتحاتها مابين ٣٨-٢٥٠ فتحة فى المليمتر المربع.

٤- تجمع الجراثيم من على سطح المناخل وتوضع فى زجاجات وتحفظ فى الثلاجة لحين عد الجراثيم / مللى لتر.

١- ولعد الجراثيم يؤخذ ١مللى لتر من معلق الجراثيم ويوضع على ورق ترشيح من النوع Milipores filte

٢- r ويتم شفط الماء بواسطة مضخة ثم تعد الجراثيم الموجودة على ورقة الترشيح ومنها يمكن حساب عدد الجراثيم الموجودة فى واحد جرام تربة حيث يفيد ذلك فى الحكم على كفاءة اللقاح.

اللقاحات المذيبة للسليكات Silicate solubilizing inocula

تحتوي هذه اللقاحات علي سلالات من البكتريا المذيبة للمعادن السليكاتية مثل الأرثوكلاز والمسكوفيت والتي تعمل علي تيسر عنصر البوتاسيوم ومن أهم الكائنات الحية الدقيقة المذيبة للسليكات مايلى :

B.circulans & Ps. mendocina and Enterobacter sakazakii

تستخدم بيئة **Alexandrov** فى إعداد لقاح البكتريا المذيبة للسليكات والتى تتكون من المواد التالية (جم/ لتر):

معدن ميكا مطحون١ جم ، سكروز ٥ جم ، فوسفات صوديوم ثنائية٢ جم ،كبريتات ماغنسيوم ٥, جم ، كربونات كالسيوم ١ جم ، كلوريد حديديك ١٠مللى تركيز١٠٪ ، موليبدات أمونيوم أثار ، pH ٧.

وفيما يلى خطوات إعداد لقاح البكتريا المذيبة للسليكات:

أ- يتم تنمية **Stock culture** لسلالة البكتريا ***Bacillus circulans*** لإعداد البادئ فى دوارق سعة ٢٥٠مللى لتر تحتوى كل منها على ١٠٠مللى لتر من بيئة **Alexandrov** .

ب- ينقل البادئ بعد ذلك إلى زجاجات أكبر حجما بها نفس البيئة.

ج- إعداد اللقاح ويتم ذلك بتنمية البادئ فى مخمرات سعة ٤٥ لتر يوجد بها بيئةAlexandrov على درجة حرارة ٣٠ ° م لمدة ٣ أيام.

وبعد انتهاء فترة التحضين يتم تلقيح مخمرات أكبر فى الحجم سعة ٥٠٠ لتر أو أكثر يوجد بها نفس البيئة السابقة باستخدام سائل التخمير الناتج من المخمرات سعة ٤٥ لتر والتحضين على درجة ٣٠ ° م لمدة ٧٢ ساعة أخرى.

د- تحميل اللقاح على حامل مناسب، ومن أهم الحوامل التى تستخدم فى هذا الغرض البيتموس أو الفرميكيوليت أو الكمبوست.

هـ- يفرد الحامل المشبع بالميكروب على صوانى ويترك فى حجرة معقمة لمدة ٤٨ ساعة على درجة حرارة ٣٠ ° م.

و- إعداد اللقاح وتعبئته بعد تحميله على الحامل المناسب فى أكياس من البولى إيثلين ثم يضبط المحتوى الرطوبى عند ٤٠٪ على أساس الوزن الرطب، بعد ذلك يتم غلق الأكياس جيدا عن طريق لحام أطرافها بالحرارة ثم تخزن على درجة حرارة ٤ ° م لحين الاستخدام.

الكائنات الحية الدقيقة الفعالة (Effective microorganisms) EM 1

وجدت الكائنات الدقيقة الفعالة أو مايطلق عليها بالمخصب الحيوى في مختلف بقاع العالم ، وقد لعبت هذه الميكروبات شديدة التكيف دورا هما في عملية التوازن البيئي في الأرض من خلال بنائها الفيزيائي المتماسك وقدرتها على التكاثر طبيعيا ، وتمتلك الميكروبات القدرة الكبيرة على (التخّمر) وقد ظهرت إستخداماتها في الكثير من أوجه الحياة المختلفة فقد دخلت في الكثير من الصناعات الغذائية مثل (فول الصويا – المكرونة – الصلصات – الخمور – الجبن – الخبز) ، أيضا وجود الميكروبات الطبيعي داخل أجسامنا فقد أثبتت التجارب الطبية والمعملية إن وجود هذه الميكروبات داخل أجسامنا يعمل على مساعدة الجسم الإنساني على الهضم وبالتالي تستطيع الاستفادة من وجودها الطبيعي في الحفاظ على صحة جسم الإنسان .

ومادة EM تتميز بوظائف التخمر وعدم الأكسدة فقد دخلت في صناعة منتجات فريدة النوع مثل مادة EM-X المستخدم في زراعة ونخالة الأرز بالإضافة إلى ملح EM والمعد للاستهلاك البشري .

وقد أكدت الدراسات العلمية والمشاريع التطبيقية الحديثة إمكانيه استخدام الكائنات الحية الدقيقة النافعة ، في تدوير المخلفات في بلاد كثيرة مثل اليابان واستراليا وبعض الولايات الأمريكية ، حيث يتم استخدام هذه التكنولوجيا في معالجه مياه الصرف الصحي مما يؤدى إلى تقليل نسبه الأكسجين الكيميائي المستهلك (COD) والأكسجين الحيوي الممتص (BOD) في هذه المياه مع

اختفاء الرائحة تماما، ويعاد استخدام المياه المعالجة في ري الحدائق بدون أى مشاكل بيئية مما يساعد على ترشيد التكلفة والطاقة .

والمخصب الحيوي **EM1** اختصار لكلمتي **Effective Micro-Organisms** ، أي الكائنات الدقيقة الفعالة، وهو عبارة عن مستحضر طبيعي يحتوي علي مجموعة متوافقة من الكائنات الحية الدقيقة النافعة ولها دور نشط وفعال في تحسين خصوبة التربة الزراعية، وهو مستحضر أمن من الناحية الصحية حيث أن الأحياء الدقيقة الموجودة به غير معدلة وراثياً، ولا يحتوي علي أي مبيدات أو مواد كيميائية ضارة.

والفكرة الأساسية للمخصب الحيوي **EM1** أن الكائنات الحية الدقيقة المفيدة النشطة الموجودة به تعمل علي تحسين صفات التربة الزراعية بصورة طبيعية حيث تقوم تلك الكائنات الدقيقة بمجموعة من الوظائف المفيدة لخصوبة التربة والتي يمكن إيجازها فيما يلي:

١- إفراز أنزيمات تقوم بتحليل المواد العضوية المعقدة ومعدنه العناصر الغذائية الموجودة بها أي تحويلها من الصورة العضوية غير الذائبة إلي الصورة المعدنية الذائبة التي يستطيع النبات امتصاصها.

٢- إفراز الأحماض التي تقوم بإذابة العناصر المعدنية الموجودة في التربة مثل إذابة أملاح الفوسفات الصخري غير الذائبة وتحويلها إلي أملاح فوسفات ذائبة، وكذلك تحرير عنصر البوتاسيوم وغيره من العناصر المرتبطة بمعادن التربة الزراعية.

٣- إفراز بعض المواد المخلبية **Chelating agents** التي تعرف باسم حوامل الحديد **Siderophores** التي تيسر للنباتات امتصاص عنصر الحديد.

٤- أكسدة مركبات الكبريت غير الذائبة وتحويلها إلي صورة ذائبة.

٥- تثبيت أزوت الهواء الجوي مما يزيد من محتوي التربة من النيتروجين وكذلك تمثيل ثاني أكسيد الكربون بواسطة البكتريا الأوتوتروفية مما يزيد من الكربون العضوي.

٦- تحسين بناء التربة **Soil Structure** عن طريق تجميع حبيبات التربة بربطها مع بعضها بواسطة خيوط هيفات الفطريات والأكتينوميسيتات أو لصقها بواسطة مواد صمغية لزجة تفرزها الكائنات الدقيقة، مما يزيد من درجة التهوية في التربة.

٧- تساعد الكائنات الدقيقة علي تكوين الدوبال **Humus** في التربة الزراعية مما يحسن من خصوبة التربة بوجه عام.

٨- إفراز منظمات النمو النباتية الأمر الذي يسرع من معدل نمو النبات.

٩- إفراز مضادات حيوية تثبط نمو بعض الميكروبات الممرضة للنبات.

١٠- إمداد التربة بأعداد وفيرة من الكائنات الدقيقة المفيدة تنافس الميكروبات المرضية وتحول دون نشاطها وأصابتها للنبات.

ومن فوائد استخدام المخصب الحيوي EM1 في الزراعة:

١- يحد من استخدام الكيماويات الزراعية Agrochemicals التي تفقد التربة تنوعها الحيوي

٢- المحاصيل المعاملة بالمخصب EM1 تكون أسرع في النمو والإنتاج ذو جودة مميزة في الطعم.

٣- تحسين بناء التربة طبيعيا Physical structure .

٤- مع استخدام هذا المخصب الحيوي فإنه يمكن الاعتماد علي مخلفات المزرعة في التسميد حيث تعامل هذه المخلفات بمحلول EM1 الذي يعمل علي تحللها في فترة قصيرة نسبياً ويعاد تدويرها في التربة مرة أخرى وذلك بدلا من حرق هذه المخلفات وما تسببه من تلوث للبيئة.

٥- مع استمرار استخدام مادة EM1 للتربة فإنه بعد ذلك تقل الحاجة إلي تكرار إضافته حيث أن هذه الكائنات تتكاثر ذاتياً وتصبح التربة حية Living soil وفي هذه الحالة يضاف في فترات متباعدة للمحافظة علي تعداد هذه الكائنات في التربة.

استخدام EM1 في تحضير سماد عضوي غني متكامل (بوكاشي Bokashi)

- ٤٠ كليو جرام كسب زيتون أو (مخلفات حيوانية) .
- ٤٠ كليو جرام قش أرز ناعم (قش قمح) .
- ٢٦٥ ملليتر EM1 .
- ٢٦٥ ملليلتر مولاس .
- ٢٦,٥ لتر ماء خالي من الكلور (مياه الأبار) .

تحضير البوكاشي Bokashi

وتوجد طريقة هوائية وأخرى لاهوائية لتحضير البوكاشي

- في الطريقة اللاهوائية تخلط عجينة الزيتون أو لمخلفات الحيوانية مع قش الأرز خلطا جيدا وذلك علي قطعة من البلاستيك.
- يضاف المولاس إلي الماء (حوالي ٢ لتر) ويذاب جيدا ثم يضاف إلي باقي كمية الماء ويقلب جيدا.
- يضاف EM1 إلي المحلول السابق ويقلب جيدا.
- يضاف المحلول المحضر بالتدريج إلي الخليط السابق (قش الأرز + المخلفات الحيوانية) مع التقليب الجيد ويجب إلا تزيد نسبة الرطوبة في الخليط الناتج عن ٣٠-٤٠ % (يؤخذ جزء

من الخليط بين قبضة اليد ويضغط عليها فإذا كانت متماسكة ولا يوجد زيادة من الماء تتبقى في كف اليد تكون الرطوبة مناسبة)، ومن الأفضل استخدم جهاز قياس نسبة الرطوبة .

- يكبس المخلوط بعد ذلك في براميل أو أكياس بلاستيك أو يوضع علي بلاستيك كبير بارتفاع حوالي ٥٠-٧٠ سم ويغطي بأحكام حتى يمكن للبكتريا أن تتكاثر لاهوائيا" ويترك لمدة أسبوع صيفاً، وثلاثة أسابيع شتاءً في مكان مظلل ويجب ألا يتعرض أثناء عملية التكاثر إلي التهوية.

عند هذه المرحلة يكون للبوكاشي رائحة الاسترات وهي رائحة عطرة مميزة ويدل هذا علي نجاح صناعة البوكاشي أما إذا كانت الرائحة عفنة فتدل علي فساد البوكاشي وفي هذه الحالة لا يستخدم ويعاد تدويره مع السماد العضوي. ويجب استخدام أوعية من البلاستيك أثناء تحضير البوكاشي ولا تستخدم الأوعية المعدنية أو العبوات الفارغة للمبيدات والكيماويات كما يجب الاهتمام بعملية الخلط وضبط نسبة الرطوبة.

يستخدم البوكاشي كإضافة بمعدل ١٠٠-٢٥٠ جم لكل شجرة وتغطي بالتربة كإضافة شهرية قبل الري، كما يستخدم بمعدل ١٠٠ إلي ٢٥٠ جم/ م٢ من التربة في حالة المحاصيل الحقلية ومن أفضل طرق استخدام **EM1** في الزراعة:

١-إضافة أرضية مع مياه الري أو من خلال نظام الري بالتنقيط.

٢-رشا" على النباتات.

٣-إضافة البوكاشي الى التربة الزراعية.

حيث أن استخدام الطرق الثلاثة معا" يعطي أفضل النتائج وخصوصا في الأراضي الرملية الجديدة المستصلحة مع إضافة الأسمدة العضوية.

ويتكون **EM1** من أكثر من ٦٠ نوع من الكائنات الحية الدقيقة النافعة التي تشمل عدة مجموعات أهمها:

١-البكتريا الممثلة للضوء Photosynthetic Bacteria .

٢-بكتريا حامض اللاكتيك Lactic Acid Bacteria .

٣-الخمائر Yeast .

٤-الأكتينوميسيتات Actinomycetes .

٥-الفطريات Fungi .

كما يحتوي على العناصر المعدنية الأساسية الضرورية لنمو النبات

N :23 mg/l   P :4mg/l   K :21mg/l   Ca :48mg/l   Mg : 27 mg/l

ويتضح أن كل مجموعة من أنواع من الكائنات الحية الدقيقة لها وظيفة خاصة بها ولكن بكتريا التمثيل الضوئي لها الريادة والأهمية في نشاط EM1 حيث تساعد وتدعم نشاط الميكروبات الدقيقة الأخرى كما تقوم بتحويل المواد المنتجة بواسطة الكائنات الحية الدقيقة الأخرى إلي مواد نافعة للنبات.

وعند إضافة المخصب الحيوي EM1 في التربة، فإن الكائنات الحية الدقيقة النافعة الأخرى يزداد عددها أيضا وبذلك تصبح التربة غنية بالكائنات الحية الدقيقة النافعة وتقل الكائنات الحية الضارة نتيجة المنافسة.

ويستخدم EM1 في المجال البيئي فيما يلي:

- المعالجة البيولوجية لمياه الصرف الصحي وخفض نسبة الامونيا في المياه
- يساعد في الحفاظ على شبكات الصرف الصحي لمنعه من تحرر غاز كبريتيد الهدروجين (H_2S).
- تنظيف وتعقيم المجاري المائية الملوثة مثل (البحيرات والمحيطات).
- خفض نسبة الملوحة بالمياه.
- يفيد في عملية تدوير مخلفات القمامة وتحويلها الى سماد مخصب.
- يفيد في تدوير مخلفات المزارع بدلا من حرقها والاستفادة منها كمخصب.
- معالجة والتخلص من الروائح الكريهة المنبعثة من المخلفات الصلبة.
- طارد عام للحشرات بواسطة الاسترات .
- تقليل انبعاث غاز الميثان المنبعث من تحلل المواد العضوية.
- تكسير المواد السامة والتخلص منها.
- يقلل من التأثير الضار للأوكسجين النشط.

هذا بالإضافة لاستخدامات عدة في شتى مجالات الحياة جاري إجراء الدراسات والبحوث عنها من قبل المؤسسة *EMRO اليابانية وكذلك EM الأمريكية. كما يوجد تقارير وأبحاث عن استخدام مادة EM كمادة مميعة (ملدنة) في الأسمنت الخرساني حيث تقلل نسبة المياه المستخدمة بنسبة ٩% كما تقلل من كمية الأسمنت المستخدم ، كما أنها ترفع نسبة المقاومة في الأسمنت الخرساني . كما أنه اثبت أن EM تساعد على حماية المعادن من التآكل ضد العوامل الجوية.

فوائد استخدام المخصبات الحيوية Benefits of biofertilizers using

١-أوضحت الدراسات التى أجريت عن استخدام المخصبات الحيوية بأنها سوف تدر عائدًا لا يقل مقداره عن مليار جنيها سنويا حيث أن أسعارها زهيدة للغاية مقارنة بأسعار الأسمدة الكيماوية.

٢-توفير جزء كبير من العناصر الغذائية الهامة للنبات (٣٠-٥٠ ٪ أزوت جوى مثبت+٥٠ ٪ فوسفات مذاب).

٣-خفض معدل التسميد النيتروجيني الكيماوي من ٣٠ إلى ٥٠ ٪ في بعض الأحيان.

٤-خفض معدل استخدام التسميد الفوسفاتي واستخدام الصخر الفوسفاتي الأرخص ثمنا بدلا من السوبر فوسفات.

٥- زيادة المحصول النهائى كمياً بنسبة ١٠ -٢٠ ٪ فى محاصيل الحبوب.

٦- تقليل السمية فى المنتجات نتيجة تقليل المتبقيات الكيماوية.

٧- الحصول على إنتاج عالى الجودة (زراعة نظيفة).

٨-زيادة المواد العضوية بالتربة وبالتالى تحسين خواصها وتحسين امتصاص الجذور للمياه والمغذيات.

٩- زيادة مسطح الجذور مما يزيد من معدل الامتصاص للماء والعناصر الغذائية.

١٠- إعادة التوازن الميكروبى للتربة وتنشيط العمليات الحيوية بها.

١١- الحد من تلوث البيئة والحفاظ على صحة الإنسان والحيوان.

١٢-الحصول علي منتج زراعي خالي من المواد الكيماوية وصالح للتصدير.

١٣-إفراز بعض الهرمونات بواسطة هذه الكائنات الحية الدقيقة الموجودة بالمخصبات الحيوية والتي تعمل كمنظمات لنمو النبات.

١٤-إفراز بعض المضادات الحيوية مما يساعد علي مقاومة بعض الأمراض المتوطنة في التربة.

١٥-تحسين خواص التربة الرملية بإفراز البولى سكريد أو الصموغ مما يعمل علي تحسين القوام والبناء فى هذه الأراضي.

١٦-المساهمة في التوسع في تطبيق نظم الزراعة الحيوية والتي تسمي بالزراعة النظيفة.

١٧-خفض تكاليف الإنتاج لانخفاض ثمن المخصبات الحيوية مقارنة بالأسمدة الكيماوية.

١٨-زيادة العائد المادي للمزارع لارتفاع سعر المنتجات الزراعية الناتجة من إتباع أساليب الزراعة الحيوية.

(الباب الثالث-الفصل الثالث)

المقاومة الحيوية Biological control

علي الرغم من أهمية المقاومة الكيماوية فى مكافحة الأفات إلا أنها لها تأثير سيئ وضار بالبيئة ، ويجب ألا نغفل الأثار السيئة والضارة على الإنسان والحيوان والحشرات النافعة والتى ترتبت على الإسراف في استخدام المبيدات، كذلك نجد أن الكائنات الحية الدقيقة التي تقوم بعمليات بيولوجية هامة ومفيدة في التربة تتأثر هي الأخري بسبب استخدام المبيدات في المقاومة ، ومن أهم الكائنات الحية الدقيقة التي تتأثر بذلك بكتريا التأزت والبكتريا التي تثبت أزوت الهواء الجوي سواء التي تعيش حرة في التربة أو البكتريا التكافلية بالإضافة إلي ما تسببه بقايا هذه المبيدات من تلوث للبيئة، ومنذ أن بدأ الإنسان في الاستخدام المكثف لهذه المبيدات بهدف مقاومة الآفات للحصول علي إنتاج محصول عالي فقد أخل بالتوازن البيئي equilibrium Environmental بسبب القضاء علي المفترسات Predators الطبيعية والتي كانت تلعب دورا هاما في القضاء علي الآفات الحشرية بافتراسها والتغذية عليها. وبسبب الأثار الضارة والتي تنتج من استعمال المبيدات في المقاومة فقد بدأ الاهتمام في السنوات الأخيرة في التوسع في استخدام طرق المقاومة البديلة ومنها المكافحة البيولوجية، ومن المعروف أن الكائنات الحية الدقيقة التي تتميز بظاهرة التضاد لها دور كبير في مقاومة كثير من أمراض النبات مثل أمراض محاصيل الخضر والفواكه ونباتات الزينة ومحاصيل الحقل. هذا ونجد أن ظاهرة التضاد الميكروبي Microbial antagonism تعتبر من أهم طرق المقاومة الحيوية الملائمة وتعتبر ذات كفاءة عالية في الوقت الحالي وذلك لتوفر المعرفة الجيدة عن أهم الكائنات الحية الدقيقة والتي أثبتت قدرتها علي التضاد وليس هذا فحسب بل وأصبح الأن من السهل تنمية هذه الكائنات علي البيئات الصناعية معمليا وإعداد اللقاحات الخاصة بها لاستخدامها في مجال المكافحة البيولوجية.

تعريف المقاومة الحيوية Biological control

المقاومة الحيوية هي استعمال بعض الكائنات الحية الدقيقة وغير الدقيقة الطبيعية أو المهندسة وراثيا لخفض تأثير الكائنات الحية الدقيقة المرضية وكذلك الحشرات الضارة.

الخصائص الواجب توافرها في الكائن المستخدم في المقاومة الحيوية

لكي يكون الكائن الحي فعال في المقاومة الحيوية لأمراض النبات يجب أن يتوفر فيه ما يلي:

١- أن يكون له القدرة علي إنتاج مضادات حيوية فعالة ضد المسببات المرضية سواء كانت بكتريا أو فطر.

٢- أن يكون لديه قدرة عالية علي التنافس علي الغذاء أو المكان الضروريان لنمو الكائن غير المرغوب (الممرض).
٣- أن يكون لديه القدرة علي إنتاج مواد هرمونية تزيد من نمو ومقاومة النبات مثل الجبريللينات أو الأوكسينات.
٤- أن يكون هذا الكائن غير ضار للنبات.
٥- أن يكون له معدل نمو أسرع من الكائن الغير مرغوب فيه.
٦- أن يكون له القدرة علي تحمل ظروف النمو المتغيرة من درجات حرارة ورطوبة و pH.

أهم الكائنات الحية الدقيقة المستعملة في المقاومة الحيوية

أولاً: البكتريا Bacteria

يوجد عدد من الأجناس البكتيرية تستخدم في مجال المقاومة الحيوية ومنها:

١-جنس *Pseudomonas*

الأنواع البكتيرية التي تنتمي إلي هذا الجنس ذات شكل عصوي قصير ، متحركة بواسطة سوط واحد أو أكثر وبعض أنواع هذا الجنس تسمي البكتريا الوميضية وذلك لأنه عند تنميتها علي البيئات الغذائية تنتج صبغات لامعة خضراء مصفرة.

وأهم الأنواع التي تستخدم في المقاومة الحيوية لأمراض النبات هي

Ps.fluorescens , Ps. putida and Ps. aeruginosa

وتستطيع السلالات التي تتبع النوع *Ps.fluorescens* أن تثبط بعض مسببات الأمراض النباتية الكامنة في التربة حيث تفرز هذه البكتريا بعض المواد التي لها دور فعال في تثبيط الفطريات الممرضة مثل

Phenazine- 1- carboxylic acid , hydrogen cyanide , Oomycin A and pyrrolintrin.

ومن أهم الفطريات التي يمكن أن تقاوم حيوياً بأنواع بكتريا جنس *Pseudomonas* هي *Pythium ultimum , Rhizoctonia solani , Fusarium oxysporum* والتي تسبب سقوط للبادرات أو أمراض الذبول عموماً.

٢-جنس *Bacillus*

الأنواع البكتيرية التي تنتمي إلي هذا الجنس عبارة عن بكتريا ذات شكل عصوي طويل – هوائية إجبارية – موجبة لصبغة جرام – تكون جراثيم داخلية وتتحرك بواسطة الأسواط، ومن أهم

الأنواع التي تتبع هذا الجنس وذات أهمية كبيرة في المقاومة الحيوية هي *Bacillus subtilis* *, Bacillus cereus* *.Bacillus mycoides , Bacillus megaterium ,*

ولقد أوضحت الدراسات الحديثة التي أجراها Podil *et al* سنة ١٩٩٥ م أن بكتريا *B.subtilis* تثبط نمو الفطريات الممرضة للنبات عن طريق إفراز مواد ذات تأثير مثبط للفطريات تشبه المضادات الحيوية كذلك تعمل هذه البكتريا علي إيجاد نوع من المقاومة المستحثة Inducible resistance في بعض العوائل النباتية مثل البسلة والفول السوداني ، وقد ثبت من بعض البحوث والدراسات أن بكتريا *B. subtilis* تمنع إصابة بادرات الموالح ببكتريا *Xanthomonas citri* المسبب لمرض التقرح في الموالح ، كذلك استخدمت نفس البكتريا في مقاومة مرض الجذر الأسود في البنجر الذي يسببه الفطر *Rhizoctonia solani* أيضا تستخدم سلالات من هذه البكتريا في مقاومة مرض سقوط البادرات في القطن وفي أمراض أعفان الجذور في فول الصويا والبرسيم الحجازي كذلك يوجد طريقة أخري تعتمد عليها هذه البكتريا في المقاومة الحيوية وهي تحليل جدر خلايا الفطر الممرض من خلال إفرازها للإنزيمات المحللة للشيتين مثل تحليل جدر خلايا فطر *Aspergillus niger* بواسطة بكتريا هذا الجنس ، وعموما أظهرت نتائج البحوث التي أجريت في الفترة الأخيرة أن من أهم الأمراض النباتية التي يمكن أن تقاوم بهذه البكتريا مرض سقوط البادرات في البرسيم الحجازي – مرض العفن التاجي في الفول السـوداني وكذلك مرض العفن الرمـادي المتسبب عن الفطر *Botrytis cinerea* ،أيضاً من البكتريا التي تستعمل بنجاح في مقاومة الحشرات *Bacillus thuringiensis* ، وتتميز هذه البكتريا بأنها تنتج عديد من التوكسينات منها الداخلي ويسمي endotoxin delta– ويوجد التوكسين الذى يفرز داخل الأسبورانجيا فى شكل بللوري ، أو تفرز توكسينات خارجية ومنها أنواع exotoxins , α , β and γ والتوكسين بيتا قابل للذوبان في الماء ومن أنجح السلالات البكتيرية في مقاومة يرقات بعض الحشرات السلالة *B.thuringiensis* var *. thuringiensis* .

بكتريا *Bacillus thuringiensis* تضم العديد من السلالات منها :

Bacillus thuringiensis var*. kurstaki .*

Bacillus thuringiensis var*. thuringiensis.*

Bacillus thuringiensis var*.alesti .*

Bacillus thuringiensis var*.sotto.*

Bacillus thuringiensis var*. anagastae.*

Bacillus thuringiensis var*.dendrolim.*

Bacillus thuringiensis var*. entomocidus .*

Bacillus thuringiensis var*.subtoxicus .*

Bacillus thuringiensis var*. pacificus.*

Bacillus thuringiensis var*.israelensis.*

Bacillus thuringiensis var*. tenebrionids.*

طرق تأثير البكتريا *Bacillus thuringiensis* علي الحشرات

البكتريا *Bacillus thuringiensis* لها مدي عوائلي واسع حيث أن سلالاتها المختلفة ممرضة Pathogenic لمعظم يرقات حرشفية الأجنحة نتيجة لذلك فإنه من المتوقع أن أعراض الإصابة بها تختلف بمعني أن تكون هناك أعراض متباينة تبعاً للنوع الحشري المصاب بها فقد وجد أن الحساسية لهذه البكتريا تختلف ليس فقط تبعاً للنوع الحشري بل أيضا تتوقف الاستجابة للمرض بها علي عوامل أخرى مثل العمر اليرقي – إصابة اليرقات بكائنات دقيقة أخرى ، كذلك تتوقف الحساسية علي العوامل البيئية مثل الحرارة – الرطوبة – مصدر الغذاء. ولقد درس طرق تأثير هذه البكتريا بالتفصيل على عدد قليل من الأنواع الحشرية حيث يمكن توضيحها فيما يلي:

١- شلل عام General paralysis

لوحظ حدوث شلل عام عند تغذية يرقات *Bombyx mori* علي غذاء ملوث بمزارع متجرثمة *للسلالات* *Bacillus thuringiensis* var*.sotto* أو *B.thuringiensis* أو var.alesti أو *B.thuringiensis var. thuringiensis* وقد لوحظ أن تطور ظهور الشلل العام يحدث بسرعة شديدة حيث تضعف الحشرات تماماً خلال ٨٠ دقيقة من تغذيتها علي البلورات البروتينية وتصبح في مرحلة احتضار ويكون الشلل مصحوباً بزيادة في قلوية الدم والتي يعتقد أنها تحدث نتيجة لتأثير البلورات البروتينية علي النسيج الطلائي المبطن للمعدة الوسطي Midgut مما يزيد من نفاذيتها وبالتالي يحدث توازن بين محتويات المعدة الوسطي pH = (1.2-1.5) ودرجة pH الدم (٦,٨) فيرتفع pH المعدة إلي (٩) ويرتفع pH الدم إلي (٨) ، وهذا يبين أن الشلل العام يكون من نتيجة زيادة قلوية الدم وليس كنتيجة مباشرة لفعل التوكسين (البلورات).

٢- شلل معدى Gut paralysis

لوحظ أن عدد كبير من حشرات رتبة حرشفية الأجنحة عند إصابتها ببكتريا *Bacillus thuringiensis* يحدث لها بطء في الحركة وتتوقف عن التغذية ويحدث تقيؤ وإسهال للحشرة

وهذه الحشرات لا يحدث لها شلل عام وإنما يحدث لها شلل معدي، ويمكن تقسيم الحشرات الحساسة لهذه البكتريا إلي ثلاثة مجاميع تبعاً للأعراض التي تظهرها :

المجموعة الأولى First group

وهذه تتضمن عدد محدد من يرقات حرشفية الأجنحة لها خاصية ارتفاع درجة الـ pH في المعدة وهذه المجموعة من الحشرات يحدث لها شلل عام سريع عقب حدوث زيادة pH الدم بمقدار ١ – ١.٥ وفي نفس الوقت فإن هذه المجموعة من الحشرات لا يحدث لها شلل معدي ولكنه لا يحدث بسبب وجود الشلل العام ولكنه يكون واضح إذا كانت الجرعة الممرضة منخفضة ويصاحب الشلل المعدي حدوث انخفاض في قلوية المعدة إلي درجة تسمح بإنبات الجراثيم وتضاعف الخلايا الخضرية مما يؤدي إلي موت الحشرة نتيجة تسمم دموي.

المجموعة الثانية Second group

في حشرات هذه المجموعة لا يحدث شلل عام ولكن يحدث الشلل المعدي بعد دقائق قليلة من تغذية اليرقات علي بلورات البروتين السامة وتتوقف اليرقات عن التغذية. وفي هذه المجموعة لا يحدث انخفاض في قلوية الدم ولكن يحدث انخفاض قليل في قلوية المعدة لدرج تسمح بحدوث إنبات الجراثيم وتضاعف الخلايا الخضرية بسرعة مما يسبب تسمم دموي.

المجموعة الثالثة Third group

في حشرة *A.kühniella* تظهر أعراض تختلف عما يحدث في المجموعتين السابقتين وهى عدم حدوث شلل عام أو شلل معدي ولكن تموت الحشرة نتيجة حدوث تسمم دموي.

التغيرات المرضية والتشريحية Histopathology

درست التغيرات التشريحية في يرقات العديد من الحشرات المصابة ببكتريا *Bacillus thuringiensis* وقد أوضحت نتائج هذه الدراسات مايلى:

١- كل الدلائل تشير إلي أن مكان التأثير هو منطقة المعدة الوسطي Midgut لليرقات.

٢- تحدث تغيرات في مظهر النسيج الطلائي المبطن للمعدة الوسطي حيث يحدث انتفاخ للخلايا ثم انفجارها وتحلل النسيج، كذلك يحدث تباعد للخلايا عن بعضها وعن الغشاء القاعدي وقد يتحطم الغشاء القاعدي.

٣- في دودة الحرير علي وجه الخصوص وجد أن البلورات البروتينية تتحلل إلي مشتقات ذات وزن جزيئي أقل لها القدرة علي إذابة المادة اللاصقة للخلايا مما يعرض الخلايا نفسها لمحتويات المعدة(الإنزيمات الهاضمة) وبالتالي يحدث للخلايا تحلل أو هضم ذاتي Auto digestion. وتعتبر حشرات رتبة حرشفية الأجنحة أكثر الأنواع حساسية لهذه البكتريا حيث

وجد أن أكثر من ١٠٠ نوع منها حساسة للبكتريا ***Bacillus thuringiensis*** وعدد قليل منها مقاوم وعموماً فإن بعض هذه الأنواع الحساسة يكون حساس لبعض السلالات ومقاوم أو أقل حساسية للبعض الأخر.

٤- أوضحت الدراسات أيضا علي رتب أخرى أن هناك أنواع منها حساسة وأخرى مقاومة ومن هذه الرتب**Coleoptera Orthoptera , Diptera , Hymenoptera** .

٥- مما يثير الدهشة أن نحل العسل ***Apis. mellifera*** لا يتأثر ببكتريا ***Bacillus thuringiensis***.

٦- كذلك وجد أن البكتريا ***Bacillus thuringiensis*** كمبيد ميكروبي لم يظهر لها تأثير ضار لمعظم الحشرات النافعة.

٧- بعض حشرات رتبة الـ **Diptera** حساسة لهذه البكتريا وهذه الحشرات لها أهمية كبيرة من الناحية الصحية كحشرات طبية وتشمل الذبابة المنزلية ***M.domestica*** والبعوض ***A. aegypti*** وكذلك ***Anopheles* sp** .

٨- دودة الأرض وجد أنها حساسة *لبكتريا* ***Bacillus thuringiensis*** حيث تموت نتيجة حدوث تسمم دموي يعتقد أن سبب الموت يرجع إلي البلورات البروتينية وذلك لأن دودة الأرض غير حساسة للبكتريا ***B. cereus*** التي تفرز إنزيمات خارجية مثل تلك التي تفرزها بكتريا ***Bacillus thuringiensis***.

بكتريا *Bacillus thuringiensis* كمبيد ميكروبي حشرى

Bacillus thuringiensis as a microbial insecticide

يوجد مجموعة من العوامل أدت إلي الاستغلال التجاري للبكتريا ***Bacillus thuringiensis*** كمبيد ميكروبي ينتج في صور تجارية مختلفة وهذه العوامل هى:

١- المدى العوائلي الواسع لعدد هائل من الأنواع الحشرية الضارة التابعة لرتبة حرشفية الأجنحة.

٢- الثبات النسبي للبلورات السامة وكذلك الجراثيم.

٣ -سهولة إنتاج هذه البكتريا لمنتجات عديدة علي أنواع متعددة من البيئات.

ومن أمثلة هذه المنتجات التجارية مايلى:

-Bakthane L-69 & Biotrol BTB

-Parasporin & Thuricide

-Dipel & Bactospeine IP54

-**Biospore 28.2 & Entomobakterin 3**

-**Sporeine & Vectobac**

-**Teknar & Bactimo**

وتعتمد طريقة إنتاج هذه البكتريا علي طريقة Tank fermentation علي بيئات غذائية مختلفة ثم يتم تركيز المزارع البكتيرية الخام بواسطة طرق مختلفة أهمها الطرد المركزي والمنتج النهائي يحتوي بالإضافة إلي الجراثيم والبلورات علي كميات من نواتج التخمر وكذلك بقايا الخلايا الخضرية بعد تجرثمها ويتم تخفيف المنتج النهائي بواسطة مواد خاملة حاملة مثل البنتونيت والدياتومات.

التطبيق الحقلي Field application

١- يمكن تطبيق مستحضرات البكتريا *Bacillus thuringiensis* عن طريق الرش أو التعفير بواسطة الأجهزة التي تستخدم في تطبيق المبيدات التقليدية حيث أن مستحضرات البكتريا تكون في صورة بودرة أو صور سائلة أو محببة ويفضل في حالة الرش أن يحتوي موتور الرش علي مقلب يساعد علي تحريك المعلقات البكتيرية Bacterial suspension داخل جهاز الرش لمنعها من الترسيب.

٢-يمكن خلط البكتريا مع مواد تساعد علي الالتصاق أو الاستحلاب أو مواد ذات نشاط سطحي بشرط أن لا تؤثر هذه المواد أو تنقص من حيوية الجراثيم أو نشاط البلورات البروتينية.

٣- كذلك يمكن خلط هذه البكتريا بالزيوت المعدنية.

٤- من المعروف أن هذه البكتريا تؤثر فقط كسم معدي ويجب أن تؤخذ عن طريق الفم ولذلك فلكي تكون فعالة يجب أن يتم الرش أو التعفيرDusting في وقت يكون فيه الطور اليرقي متواجد بكثرة وليست أطوار أخرى ومن هنا تتضح أهمية أن تتم ملاحظات بيئية دقيقة قبل أن يتم تحديد موعد الرش.

٥- تأثير أي معاملة (رش أو تعفير) يحدده تماماً عادات وسلوك الحشرات الواجب مقاومتها وذلك لأن الرش أو التعفير يمكن أن يغطي فقط السطح الخارجي المعرض من النبات وعلي هذا فإن الحشرات التي تعيش يرقاتها داخل الأجزاء النباتية معظم أو كل عمرها مثل الثاقبات- حافرات الأنفاق- ديدان اللوز- أفات الثمار التي تظهر حساسيتها في المعمل يمكنها أن تهرب من التعرض لهذه البكتريا ، لذا يجب أن يؤخذ في الاعتبار هذا العامل عند التفكير في استخدام هذه البكتريا في مقاومة الأفات الحشرية الضارة.

وعندما تتغذى الحشرات على الأوراق التى عوملت بمعلق الجراثيم التى تكونها البكتريا سواء بالرش أو التعفير يحدث تسمم للحشرات نتيجة التغذية بميكانيكيات مختلفة فمثلا فى كثير من حرشفيات الأجنحة يحدث شلل فى بلعوم اليرقة ثم امتناع عن الأكل وتموت الحشرة خلال ٢-٤ أيام من غزو البكتريا لجسم الحشرة، وفى حالات أخرى يحدث شلل عام لليرقة بعد التغذية على الأوراق المعاملة بالبكتريا مع ارتفاع فى قلوية سوائل الجسم، ويمكن أن تستخدم هذه البكتريا بنجاح فى مقاومة يرقات دودة ورق القطن والكرنب وحشرة الإفستيا.

أنواع بكتيرية أخرى مثل:

-Bacillus popillia

تكون هذه البكتريا بللورة سامة ذات تركيب بروتيني داخل الاسبورانجيا ، وهي تسبب **Milky disease** للخنفساء اليابانية ***Popillia japonica*** .

-Bacillus sphaericus

تستعمل هذه البكتريا في مقاومة يرقات البعوض من جنسى ***Culex, Anopheles*** ، وهذه البكتريا لا تكون بللورات سامة بداخلها ، ولكن عندما تتغذى عليها يرقات الناموس ، فإن البكتريا تتحلل في بلعوم اليرقة وينفرد التوكسين الموجود بجدار خلية البكتريا فتموت اليرقات بعد ٨- ١٠ ساعات.

والبكتريا ***Serratia marcescens*** والتى تتبع عائلة **Enterobacteriaceae** تتميز بأنها تنتج مستعمرات فاتحة حمراء على بيئة الأجار ولذا يمكن التعرف عليها بهذه الطريقة عند عزلها من العائل الحشرى وعلى الرغم من ذلك فهناك سلالات من هذه البكتريا لا تنتج الصبغة الحمراء وهذه يصعب التعرف عليها. وهذه البكتريا الممرضة للحشرات تتميز أيضاً بأنها سالبة لجرام عصوية قصيرة – متحركة ، وقد أمكن تسجيل ٥٠ نوع حشري مصابة بها (من السلالات التي تكون صبغات حمراء).

بكتريا ***S. marcescens*** لها القدرة على التضاعف في الدم وكذلك في تجويف جسم الحشرات وينتج عنها تسمم دموي عام يؤدى إلى قتل الحشرات في فترة قليلة من ١-٣ أيام. وهناك دليل غير مباشر على أن هذا النوع من البكتريا يمكن أن يتضاعف في معدة بعض الحشرات عقب التغذية عليها ويساعد على ذلك أنها لا هوائية اختياريا وتنمو في مدى واسع من الـ **pH** وليس لها احتياجات غذائية معينة وتختلف حساسية الحشرات لها عند إعطائها بطريق الحقن أو بطريق التغذية.

١- الحقن Injection

عند حقن هذه البكتريا فى دم الحشرات وجد أن الـ LD50 (وهى عبارة عن أقل جرعة تؤدى إلى قتل ٥٠% من الخلايا الممرضة) من ١٠-٥٠ خلية بكتيرية/حشرة كاملة لنطاطات الأوراق ، ١٠ خلية بكتيرية للجراد الصحراوي ، ٤٠ خلية بكتيرية لدودة الشمع الكبيرة، ٤٠٠٠ خلية بكتيرية للصرصور الألماني. والحشرات التي تم عدواها بالبكتريا لا تظهر عليها أي أعراض مميزة ولكن عند الموت فإن السلالات الحمراء من البكتريا قد تؤدى إلى ظهور لون أحمر أو وردى على جسم الحشرة ، وعند موت الحشرات فإن البكتريا تملأ الدم والأنسجة وتستمر في التضاعف حتى بعد موت الحشرات مما يؤدى إلى هدم وتحلل مكونات جسم العائل تماماً .

٢- التغذية Nutrition

يوجد صعوبة كبيرة في إحداث عدوى للحشرات عن طريق إعطائها في الغذاء حتى بجرعات كبيرة وكانت قيمة الـ LD50 لنطاطات الأوراق تتراوح بين $3 \times 10^{4} - 9 \times 10^{4}$ خلية بكتيرية للسلالات الحمراء، كما أمكن الحصول على نسب موت تتراوح ما بين ١٢- ٢٨ ٪ فى ٦ أنواع من يرقات حرشفية الأجنحة بتركيزات تتراوح بين $3 \times 10^{5} - 6 \times 10^{5}$ خلية بكتيرية.

٣-جنس *Streptomyces*

تكون هيفات متفرعة تحمل عليها سلاسل من الجراثيم الكونيدية وتتميز أفراد هذا الجنس بإفراز صبغات متعددة الألوان ، والأنواع التي تتبع هذا الجنس تفرز العديد من المضادات الحيوية والفعالة في مقاومة مسببات أمراض النبات البكتيرية والفطرية. كما تفرز أنواع هذا الجنس العديد من الإنزيمات المحللة لجدر خلايا الفطريات الممرضة مثل Cellulase , Hemicellulase , Chitinase and Glucanase .

ومن أهم الأنواع التي تتبع هذا الجنس وتستخدم بكثرة في مقاومة بعض أمراض النبات بيولوجيا ما يلي :

Str. lydicus , Str. griseoplanus , Str. murimus , Str. cyanovirides and Str. aureofaciens .

ميكانيكية تأثير جنس *Streptomyces* علي مسببات أمراض النبات

١- تحدث بعض أنواع هذا الجنس تثبيط لنمو جراثيم بعض الفطريات كما في حالة *Helminthosporium sativum* أو تحدث تحلل لميسليوم الفطر الممرض .

٢- التطفل علي الكائن الممرض أو تحليل جدار خلية الفطر بإفراز إنزيمات خارجية.

٣- إفراز مضادات حيوية ومن أهم هذه المضادات **Polyenes & Cinnamycin** وهذه المضادات تنتج بواسطة ***Str. cinnamomeus*** أما النوع ***Str. hygroscopicus*** ينتج المضاد الحيوي **Geldanamycin** وهذه المضادات لها تأثير فعال ضد الكثير من مسببات أمراض النبات الفطرية.

٤- إنتاج بعض المواد المضادة المتطايرة مثل الكلوروافين وحمض الكربوكسيلك والهيمي بيوثيانين.

٥- منافسة الكائن الممرض علي الماء والغذاء فى البيئة.

ومن أهم الأمراض التي تقاوم حيويا باستعمال أنواع جنس ***Streptomyces*** ذبول الموز الذي يسببه فطر ***Fusarium oxysporum* f.sp. *cubens*** وعفن جذور نباتات قصب السكر والذرة الذى تسببه الأنواع التابعة للجنس ***Pythium***.

كذلك وجد أن غمر البذور أو الشتلات في معلق من راشح ميكروب ***Streptomyces ochraceiscleroticus*** يؤدي إلي خفض نسبة الذبول في القطن ، الفلفل ، الباذنجان ، الطماطم ، البطيخ والخيار بنسبة تتراوح من ٧٤ - ٩٣٪ طبقا لنوع العائل وكثافة المسبب المرضي أيضا يمكن أن يقاوم عفن الجذور المتسبب عن فطر ***R. solani*** أو ذبول الفيوزاريوم بواسطة سلالات من جنس ***Streptomyces***. وعند معاملة بذور البسلة والقطن بسلالة ***Str. lydicus* WYEC** ودراسة تأثير ذلك علي أمراض عفن الجذور وسقوط البادرات وبعض صفات النمو في تربة معداه صناعيا بالفطر ***Pythium ultimum*** فإن النتائج أوضحت حدوث نقص فى شدة المرض ، ويوجد بكتريا أخري تستخدم بنجاح في المكافحة البيولوجية لأمراض النبات مثل استخدام بكتريا ***Erwinia herbicola*** في مقاومة اللفحة النارية في الكمثري وبكتريا ***Agrobacterium radiobacter*** التي تستخدم في مقاومة التدرن التاجي في أشجار الحلويات.

ثانياً: الفطريات Fungi

يوجد عدد من أجناس الفطريات تستخدم في المقاومة الحيوية منها:

١- جنس **Trichoderma**

يضم هذا الجنس مجموعة من الأنواع الفطرية التي أثبتت الدراسات فاعليتها في مجال المكافحة البيولوجية ومن أهم هذه الأنواع :

***T.harzianum* , *T. hamatum* , *T. viride* , *T. polysporum* , *T.koningii* and *T.pseudokoningii* .**

ومما هو جدير بالذكر أن المقاومة الحيوية بدأت في الحقل باستخدام جنس ***Trichoderma*** بواسطة العالم **Well *et al*** سنة ١٩٨٢م باستخدام تحضيرات من فطر تريكودرما النامي علي بيئة صلبة تحتوي علي حبوب القمح أو الشيلم لمقاومة الفطر الممرض ***Sclerotium rolfsii*** علي نباتات الطماطم وذلك في الحقل ولقد وجد أن مقاومة الفطر الممرض بهذه الطريقة تعادل مقاومته باستخدام المبيد الفطري (**Penta chloro nitro benzene, PCNB**) ومن أهم أمراض النبات الفطرية التي أمكن مقاومتها بنجاح باستخدام فطر ***T. harzianum*** أمراض ذبول الطماطم والمتسببة عن فطر ***F. oxysporum* f.sp*. lycopersici*** ومنها:

١- أمراض أعفان الجذور في النارنج والفولكاماريانا والذي يسببها فطر ***R. solani.***

٢- مرض العفن الأبيض في البصل المتسبب عن فطر ***Sclerotium cepivorum.***

٣- أمراض ذبول القطن والخيار المتسببة عن فطر ***Verticillium dahlia*** .

وهذه الأمراض السابقة تقاوم بواسطة حقن السلالات التى تتبع جنس ***Trichoderma*** في التربـة. وأيضاً يمكن أن تقاوم الأمراض الفطرية بواسطة السلالات التى تتبع جنس ***Trichoderma***بواسطة معاملة البذور عند الزراعة حيث أن هذه الطريقة تحتاج إلي كميات قليلة من اللقاح عند مقارنتها بالطريقة السابقة (معاملة التربة).

ومن أهم الأمراض التي أمكن مقاومتها جيداً سقوط البادرات المفاجئ في البسلة والمتسبب عن فطر ***R. solani*** وذلك بمعاملة البذور بالجراثيم الكونيدية للفطر ***T. hamatum*** كذلك تم الحصول علي نمو جيد وزيادة في الإنتاج لمحصول فول الصويا المزروع في تربة معداه بالفطر الممرض ***R. solani*** عند معاملة البذور بفطر المقاومة الحيوية ***T. pseudokoningii*** ، أيضاً تم الحصول علي نتائج مشجعة عند معاملة حبوب الذرة وبذور القطن بالفطر ***T. harzianum*** في وجود الفطر الممرض ***R. solani***.

ومن أهم المضادات الحيوية التي تفرزها بعض أنواع الفطر ***Trichoderma***

Trichodermol ويفرزه الفطر ***T. polysorum***.

Harziandione ويفرزه الفطر ***T.harzianum*** .

وترجع ميكانيكية تثبيط فطر ***Trichoderma*** للفطريات الممرضة إلى:

١- إنتاج العديد من المضادات الحيوية والتي تثبط فعل المسبب المرضي .

٢- إنتاج إنزيم **glucanase** - $1,3$ -β المحلل لجدر خلايا الفطر الممرض.

٣- اختراق خلية العائل وإنتاج إنزيم السليوليز حيث يؤدي إلي تحطيم خلايا الكائن الممرض.

٤- حدوث تفاعل تطفلي بين هيفات فطر *Trichoderma* حيث تلتف حول هيفات الفطر الممرض وتحطم خلاياه.

٢-جنس *Gliocladium*

أنواع هذا الفطر تستطيع أن تعيش في ظروف بيئية مختلفة حيث تتواجد في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية والمعتدلة ومن أهم السلالات التي تستخدم علي نطاق تجاري في المكافحة البيولوجية من هذا الفطر هي :

G. roseum , *G. virens* , *G. deliquescens* , *G.flavafuscum* and *G.vermoesenii* .

ولقد أثبتت الدراسات الحديثة أن أنواع هذا الجنس تفرز العديد من المضادات الحيوية مثل :

Viridin , Gliotoxin ,Gliovirin , Ferulic acid and Nectriapyrone.

ويعتمد فعل هذه الفطريات في المقاومة الحيوية علي منافسة الفطريات الممرضة علي المواد الغذائية والتطفل الفطري Mycoparasitism . كذلك وجد أن هذه الفطريات تعوق استعمار الأنسجة النباتية بواسطة الفطريات الممرضة . أيضا تنتج هذه الفطريات الكثير من المثبطات الفطرية سابقة الذكر وبعض الإنزيمات المحللة لجدر خلايا الفطريات الممرضة.

من أهم الفطريات الممرضة التي تقاوم بيولوجيا بفطر *Gliocladium roseum* فطر *Botrytis cinerea* أثناء وجوده علي عوائله المختلفة مثل الفراولة والطماطم والجيرانيوم ، أما عن الفطريات التي تقاوم بالفطر *Gliocladium virens* فهي الأنواع الفطرية التي تنتمي إلي جنس *Phytophthora* مثل *P. cinnamomi* , *P.cactorum* , *P. fragariae* and *P. nicotinae* وكل هذه الفطريات تحدث أمراض تعرف بالأمراض الكامنة في التربة مثل أعفان الجذور أو الذبول ، كذلك توجد فطريات أخري تستخدم في مجال المكافحة البيولوجية مثل الفطر *Cladorrhinum foecundissimum* و *Talaromyces flavus* والتي يمكن أن تستخدم في مقاومة أمراض الذبول لكثير من العوائل النباتية مثل الطماطم والبطاطس والفاصوليا والتي تسببها الفطريات الممرضة التي تنتمي إلي أجناس *Rhizoctonia* , *Sclerotium* and *Verticillium*، ويوجد فطريات أخري مثل *Chaetomium globosum* ، *Fusarium proliferartum* تستخدم في المقاومة الحيوية لأمراض البياض الدقيقي والزغبي في العنب.

جدول (٣-٣-١): المقاومة الحيوية لبعض الأمراض النباتية في بعض المحاصيل.

اسم المرض	الميكروب الممرض	الميكروب المستخدم في المقاومة
عفن الرايزوكتونيا في القمح	*Rhizoctonia solani*	*Bacillus subtilis*
التبقع الشبكي في الشعير	*Drechslera teres*	*Pseudomonas fluorescens* *Pseudomonas* sp
الذبول في القمح والشعير	*Fusarium culmorum*	*Gliocladium roseum*
البياض الدقيقي في الشعير	*Erysiphe graminis f.sp.hordei*	*Bipolaris maydis*
سقوط البادرات في الذرة	*Pythium* sp , *Fusarium* sp	*Septoria nodorum* *T. viride , G. virens*
سمطة الورقة في قصب السكر	*Xanthomonas albilineas*	*Erwinia herbicola*
لفحة الغمد في الأرز	*R.solani , A.niger*	*P. putida , P. fluorescens*
سقوط البادرات في الطماطم	*R. solani* , *Pythium* sp	*B. subtilis, P. fluorescens* *P.aeruginosa*
ذبول الفيوزاريوم في الطماطم	*F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*	*Trichoderma harzianum* *Trichoderma koningii*
الذبول البكتيري في الطماطم والبطاطس	*P. solanacearum*	*Streptomyces mutabilis* *Streptomyces corchorusii*
اللفحة المبكرة في الطماطم	*Alternaria solani*	*Streptomyces canescens*
الذبول الفطري في الطماطم والبطاطس	*Sclerotium rolfsii*	*Gliocladium virens*
اللفحة المتأخرة في البطاطس	*Phytophthora infestans*	*T.pseudokoningii*
الجرب العادي في البطاطس	*Streptomyces scabies*	*Streptomyce lydicus*
اللفحة النارية في الكمثري والتفاح	*Erwinia amylovora*	*Erwinia herbicola* , *Ps. fluorescens*
الجرب في التفاح	*Venturia inaeqaulis*	*Chaetomium globosum*
البياض الدقيقي في العنب	*Uncinula necator*	*Ampelopyces quisqualis*
البياض الزغبي في العنب	*Plasmopara viticola*	*Fusarium proliferatum*
التدرن التاجي في العنب	*Agrobacterium vitis*	*Agrobacterium radiobacter*
التقرح في الحمضيات	*Xanthomonas campestris*	*B. subtilis, P. fluorescens*

		T. harzianum, T. viride
أمراض الجذور في البسلة	*Pythium debaryanum* *R. solani, F. oxysporum f. pisi*	*B.subtilis , T.harzianum* *P. fluorescens*
سقوط البادرات في الفاصوليا	*Sclerotium rolfsii*	*Gliocladium virens* *Trichoderma harzianum*
العفن الأبيض أو عفن الإسكليروتينيا	*Sclerotinia sclerotiorum*	*Epicoccum nigrum* *Alternaria alternate* *Erwinia herbicola*
عفن البوتريتس علي أوراق الفاصوليا	*Botrytis cinerea*	*T.harzianum*
عفن الاسلكلورشيم	*Sclerotium rolfsii*	*Glomus fasciculatum*
ذبول الفيرزاريوم في الحمص	*F. oxysporum , F. ciceris*	*P. fluorescens , B.subtilis*
عفن السيقان والثمار في الفول السوداني	*Sclerotium rolfsii*	*T.harzianum,* *T. hamatum*
أنثراكنوز الخيار	*Colletotrichum orbiculare*	*P. fluorescens*
التبقع الزاوي في الخيار	*P. syringae pv. lachrymans*	*P. putida* *Serratia marcescens*
الذبول في الخيار	*F.oxysporum* f.sp. *cucumerinum*	*P.putida* *Serratia marcescens*
البياض الدقيق في الخيار	*Sphaerotheca fuliginea*	*Tilletiopsis pallescens* *Tilletiopsis wshingtonensis* *Verticillium lecanii*
الذبول في القطن	*Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*	*P. fluorescens, B.subtilis*
مرض سقوط البادرات في القطن	*Rhizoctonia solani* *Pythium debaryanum*	*P.putida* *P.fluorescens*
ذبول الفيرتسليوم في القطن وعوائل أخري	*Verticllium dahlia*	*Glomus mosseae,* *Glomus versiforme* *Sclerocystis sinuosa*
لفحة (عفن) القمة في عباد الشمس	*Sclerotinia sclerotoiorum*	*Talaromyces flavus* *Trichoderma viride* *Gliocladium catenulatum* *P. fluorescens , P. putida*
سقوط بادرات العصفر	*Pythium ulitmum*	*P. fuorescens ,*

	Pythium debaryanum	*Erwinia rhapontici* *Bacillus polymyxa*
صدأ العصفر	*Puccinia carthami*	*T.harzianum ,* *T. viride, P. fluorescens* *G. roseum, B. cereus*
سقوط بادرات بنجر السكر	*Pythium ulitmum*	*Pseudomonas putida*
الذبول في القرنفل	*Fusarium oxysporum* f..sp. *dianthi*	*P.fluorescens*

الفطريات والمقاومة الحيوية للحشرات

يصيب الفطر أولاً السطح الخارجي للحشرة، وفي هذا يختلف عن العدوي الناتجة من الفيروسات والبكتريا والبروتوزوا ، ثم تنمو الجراثيم الكونيدية للفطر ، وتحت ظروف الحرارة والرطوبة المناسبة تمتد نموات الفطر إلي داخل جسم الحشرة ، وبذلك يتواجد الفطر خارج وداخل جسم الحشرة.

ومن أمثلة الفطريات المستعملة بنجاح في مقاومة الحشرات ***Bauveria bassiana*** ويستعمل هذا الفطر في مقاومة خنفساء بطاطس كلورادو بالرش بمعدل ١-٢ كجم/هكتار بوفارين ، وهو تحضير فطرى يحتوى علي ٣×١٠^{١٠} جراثيم كونيدية /جم.

ويوجد دراسات عديدة عن إمكانية استخدام الفطريات في مجال مكافحة الأفات ، ويوجد مجموعة من القواعد العامة التي تحكم علاقة الفطريات بالحشرات والتي تختلف باختلاف الفطريات نذكر منها ما يلي:

١-كثير من الفطريات التي لها علاقة بالحشرات لا تعتبر مسببات مرضية حقيقية.

٢-الفطريات الاختيارية تنمو على بعض الحشرات التي ماتت بفعل أسباب أخرى.

٣-بعض الفطريات تتطفل ولكنها في علاقتها بالحشرات غير قاتلة لها وتضم الفطريات الأسكية الكثير من الأنواع التي تعيش مؤقتاً في فترات حياتها الأولى على سطح الحشرات الخارجي.

٤-معظم الفطريات المسببة للأمراض في الحشرات لا تدخل إلى جسم الحشرة عن طريق اختراق الكيوتيكل وهذا يتطلب ظروفا ملائمة من الحرارة والرطوبة وعند وصول الفطر إلى الفراغ الجسمي فإنه يبدأ في مهاجمة الأنسجة ويملأ تجويف الجسم بالنموات الكثيفة من الميسيليوم ثم يرسل الحوامل الكونيدية إلى الخارج حيث تحمل الأجسام الثمرية التي تمكن الفطر من ملامسة عائل أخر جديد وإصابته.

٥-عندما تصاب الحشرة بالفطريات فإنها تجف وتموت وتصبح كالمومياء وأحياناً تكون مغطاة بالكونيديات أو الميسيليوم تمكن الفطر من البقاء لفترة زمنية طويلة لمواجهة الظروف البيئية المعاكسة.

يتبع رتبة Entomophthorales ستة أجناس من الفطريات تتشابه من ناحية التركيب وأهم الأجناس التي تصيب الحشرات هي أجناس :

- Entomophthora - Rlassospora

والتي يمكنها أن تنمو داخل أجسام الأطوار الغير كاملة والكاملة لعديد من الأنواع الحشرية ومن أمثلة الأمراض التي تسببها فطريات هذه الرتبة المرض الناتج عن إصابة الذباب المنزلي بفطر *Entomophthora musca* والذباب المصاب بهذا الفطر يوجد عادة في المنازل ملتصقا بالحوائط والجدران والشبابيك محاطا بنموات الفطر.

هذه الظاهرة تفسر صفة من أهم الصفات وهى أن بعد ظهور الحوامل الكونيدية خلال جلد الحشرة يتكون على هذه الحوامل الكونيديات في أطرافها ، وعندما تلامس هذه الكونيديات أو تقع على عائل قابل للإصابة وتكون العوامل البيئية مناسبة (وجود درجة كافية من الرطوبة النسبية) تحدث الإصابة كما يلي:

١- تبدأ الجرثومة في الإنبات فترسل هيفات خلال جلد الحشرة حيث تخترقه إلى الفراغ في الجسم.

٢- تتكسر الهيفات داخل الجسم إلى أجزاء صغيرة تسمىHyphal bodies وتبدأ في مهاجمة الأنسجة وقتلها ثم تتحول الـ Hyphal bodies بعد ذلك بسرعة كبيرة وتنمو مكونة هيفات تخترق جدار جسم الحشرة إلى الخارج لتكون حوامل كونيدية تحمل كونيديات لتكرار الإصابة أو قد ينتج جراثيم جنسية أو لا جنسية ساكنة(جراثيم كلاميدية) لمواجهة الظروف البيئية الغير ملائمة لنمو الفطر أو في حالة عدم توفر العائل.

وقد وجد أن معظم الأنواع التابعة لهذا الجنس لا تنمو على البيئات الصناعية ولو أن بعضها قد أمكن تنميتها على بيئة البطاطس .ومن أهم الأنواع التابعة لهذا الجنس:

يصيب الجراد وحرشفية الأجنحة *Entomophthora grylli*-

يصيب البق الدقيقى *Entomophthora funosa*-

يصيب المن *Entomophthora aphids*-

يعتبر جنس *Coelomoyces* من الفطريات المائية التى تصيب يرقات البعوض المختلفة من جنس *Culex* و*Anophles*.

أعراض الإصابة

١-تتراوح الإصابة في المجموع اليرقى لهذه الحشرة من الانخفاض الشديد إلى أن تصل نسبة الإصابة إلى٩٥٪ ويتم تطور الفطر داخل تجويف جسم اليرقات وكذلك فان فراغ الجسم في الحشرات المصابة يكون ممتلئاً بالجراثيم والهيفات والميسيليوم.

٢- تصبح اليرقات بيضاء أو صفراء أو برتقالية اللون.

٣-ينمو الفطر ويتطور في الطور اليرقى للحشرات ولو أنه يحدث أحيانا أن يتم هذا النمو خلال طوري العذراء والحشرة الكاملة.

(الباب الرابع-الفصل الأول)

دور الكائنات الحية الدقيقة فى المعالجة البيولوجية للمخلفات

Role of microorganisms in biological treatment of wastes

أصبحت البيئة ونظافتها من الضروريات العصرية التى لها دوراً كبيراً فى حياة الإنسان وصحته وإنتاجيته لذا أصبح لزاما علينا فى هذا العصر أن نتعامل مع المخلفات الزراعية وغير الزراعية على أنها ملوثات بيئية ويمكن تحويلها من مخلفات عديمة القيمة إلى سلع استراتيجية يمكن الاستفادة منها، ومع التغير الذى حدث الأن فى نمط السلوك الريفى حيث أصبح يعتمد أهل الريف على استخدام التقنيات الحديثة فى وسائل معيشتهم حيث ظهرت فى الأونة الأخيرة مشكلة كيفية التخلص من المخلفات الزراعية وعلى رأس هذه المخلفات قش الأرز Rice straw الذى أصبح تراكمه مشكلة تؤرق كل أجهزة الدولة المعنية ومنها وزارة الزراعة ووزارة البيئة ومعظم الجهات البحثية، ولكى نتصور حجم مشكلة تراكم المخلفات الزراعية يجب أن نعرف كمية هذه المخلفات التى تنتج سنويا، فبعض الإحصائيات تقول أن كمية المخلفات الزراعية تصل إلى ٣٠ مليون طن سنويا والبعض الأخر يقول أنها تربو على ٣٥ مليون طن وهذه المخلفات تتمثل فى الأتى:

١- مخلفات المحاصيل مثل الأحطاب والقش والعروش وكل مخلفات الحاصلات النباتية وأشجار الفاكهة وكذلك مخلفات محاصيل الخضر.

٢- مخلفات حيوانية مثل روث الماشية Cattle dung وزرق الطيور Poultry manure.

يستخدم جزء قليل من هذه المخلفات الزراعية في تغذية الحيوانات مثل عروش الخضروات ولكن يتبقي بعد ذلك كميات هائلة يصعب استخدامها في تغذية الحيوانات مثل الأحطاب والقش وبقايا تقليم الأشجار، وهذه المخلفات يتم التخلص منها بطريقة خاطئة مثل الحرق ونواتج عملية الحرق تؤدي إلي تلوث خطير للبيئة ، وفي حالة ترك هذه المخلفات يؤدي تراكمها إلي تفشي الأمراض وكثرة الحرائق في الريف ، لذلك يجب علينا أن نعظم الاستفادة من مثل هذه المخلفات بإتباع إحدى طرق المعالجات البيولوجية Biological treatments الأتية :

١- التخمير الهوائي للمخلفات الزراعية لإنتاج السماد العضوي الصناعي Compost.

٢- الاستفادة من المخلفات الزراعية لإنتاج الأعلاف Fodders والسيلاج Silage لتغذية الحيوانات الزراعية.

٣- التخمير اللاهوائي للمخلفات الزراعية لإنتاج سماد وغاز البيوجاز Biogas.

٤- استخدام بعض المخلفات الزراعية مثل القش لتنمية وإنتاج فطريات عيش الغرابMushroom.

وعند إتباع نظم المعالجة البيولوجية للمخلفات الزراعية سيساهم في تقليل التلوث البيئي الذي أصبح مشكلة قومية ويجب علي الجميع المساهمة في حل هذه المشكلة .

أهمية وفوائد المعالجة البيولوجية

Importance and benefits of biological treatment

١- تعظيم الاستفادة من المخلفات الزراعية وتحويلها إلي سلع ذات قيمة اقتصادية.

٢- الاتجاه نحو الزراعة العضوية Organic farming وخصوصاً في الأراضي المستصلحة الجديدة .

٣- تقليل استخدام الأسمدة الكيماوية من خلال التوسع في استخدام الأسمدة العضوية والتي تنتج من الكمر الهوائي للمخلفات الزراعية.

٤- إنتاج أعلاف غير تقليدية Non-traditional مما يساهم في تنمية الثروة الحيوانية Animalization wealth.

٥- رفع المستوي الثقافي البيئي والاجتماعيSocio-economic لسكان القري.

٦- إيجاد فرص عمل للشباب.

دور الكائنات الحية الدقيقة فى المعالجة البيولوجية لمخلفات المدن

Role of microorganisms in biological treatment of urbane wastes

تعتبر مخلفات المدن أحد المشكلات البيئية الهامة حيث يترتب عليها أثار صحية Hygiene واجتماعية Social ، ولهذا يجب علي كل المشتغلين في المجالات البحثية المختلفة أن يجتهدوا في إيجاد الحلول المناسبة للاستفادة من الكم الهائل من هذه المخلفات الصلبة (القمامة)، والقمامة هى عبارة عن مخلوط من الصفيح والبلاستيك والأقمشة ومخلفات المنازل والمطابخ ، وتختلف هذه المكونات من مدينة إلي أخرى وعلي حسب السلوك الاجتماعي والعادات الخاصة بكل مجتمع وعموماً يمكن تقسيم أنواع القمامة إلي:

١-قمامـة المنـازل حيـث تتكـون مـن بقايـا الأطعمـة Viand residues وقشـور الخضـروات والفواكه والعلب الصفيح والبلاستيك.

٢-قمامة المستشفيات وهي عبارة عن قطن وشاش مختلط بالدم وسرنجات بلاستيك علاوة علي مخلفات مطابخ هذه المستشفيات.

٣-قمامة المصانع وهي عبارة عن كرتون أو جلود أو بعض بقايا التشغيل.



شكل٤ (١) -١: تراكم القمامة فى شوارع القرى والمدن

ومما هو جدير بالذكر أن الطريقة الأساسية للتخلص من الكم الهائل من هذه المخلفات هي عملية الحرق وهذا أسلوب غير علمى وغير حضارى لما يترتب عليه الكثير من المشاكل البيئية ومنها:

١-تصاعد كميات هائلة من الدخان والغازات السامة.

٢-تعتبر المقالب المكشوفة مهدا لتكاثر القوارض والحشرات الضارة.

٣-تعرض العمال لمخاطر صحية عديدة.

٤-حدوث تلوث خطير للبيئة وخصوصا بمادة الديوكسين والتى تنتج من حرق البلاستيك وهى تسبب سرطانات.

٥-تعرض الأهالي الذين يقطنون قريباً من هذه المقالب إلي أمراض كثيرة وأهمها أمراض الجهاز التنفسي Respiratory tract.



شكل٤ (١) -٢: تصاعد الأبخرة والغازات السامة عند حرق القمامة

طرق المعالجة البيولوجية للقمامة

Methods of biological treatments of garbage

يوجد عدة طرق لإجراء عملية المعالجة وهي:

أ) استخدام نظام المقالب الأرضية الصحية.

ب) تحويل القمامة إلي سماد عضوى.

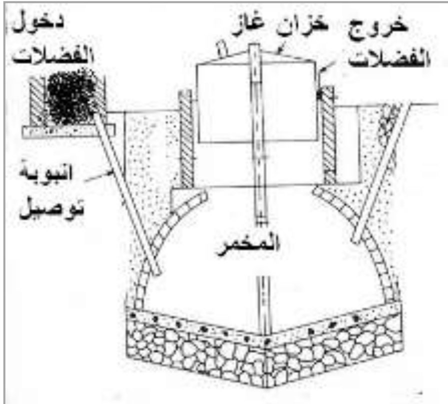
جـ) تحويل القمامة إلي سماد عضوى بواسطة ديدان الأرض.

د) التخمير اللاهوائى بمعزل عن الهواء لإنتاج غاز البيوجاز.

أولاً: استخدام نظام المقالب الأرضية الصحية Using of sanitary landfills

في هذه الطريقة يتم تجميع القمامة في مكان منخفض عن سطح الأرض مع إجراء عملية دك يومى للقمامة في صورة طبقات رقيقة ويستمر العمل هكذا حتي يمتلئ المكان المخصص لذلك وفي النهاية يتم تغطية المقلب بطبقة عازلة من التربة وتترك فترة من الزمن حتي يتم تحللها وتتميز

هذه الطريقة بأنها أرخص الطرق للتخلص من القمامة ، حيث يتم التخلص من مخلفات المدن بطريقة صحية وأمنه Healthy and safety ، وفي هذه الطريقة لا يحدث تكاثر للقوارض والحشرات الضارة ، أيضا من مزايا هذه الطريقة أنها تحد من انتشار الحرائق ، كذلك يمكن الانتفاع بأرض المقلب في إنشاء الحدائق والمتنزهات العامة.





شكل٤(١) -٣: شكل يبين وحدة إنتاج البيوجاز من القمامة

ثانياً: تحويل القمامة إلي سماد عضوى صناعى

Conversion of garbage to compost

تهدف هذه الطريقة إلي تحويل القمامة إلي سماد عضوى وتتم هذه العملية في المصانع علي خطوات كما يلى:

١- فرز القمامة

بعد تجميع القمامة تتم عملية الفرز هذه باستبعاد المواد غير الصالحة للتخمر مثل العلب الصفيح والزجاج والجلود والكاوتشوك والأخشاب والعظام، وتتم عملية الفرز للمواد المختلفة إما يدوياً أو بالغرابيل الهزازة أو باستخدام السيور المتحركة أما المواد المعدنية يتم فرزها عادة بالفرازات المغناطيسية ويمكن الاستفادة من نواتج عملية الفرز في أغراض عديدة.

٢- طحن القمامة

تتم عملية طحن القمامة لجعلها أكثر تجانسا ولزيادة سطحها النوعى وبالتالى الإسراعSpeedup من عملية تحللها بفعل الكائنات الحية الدقيقة.

٣- تكويم القمامة

يتم في هذه المرحلة عمل كومات من القمامة المطحونة Grinding سواء في غرف أو حفر أو في العراء علي أرض مدكوكة ومرصوصة، ويفضل أن لا يزيد ارتفاع الكومات عن مترين لسهولة عملية التقليب فيما بعد.

٤- تقليب الكومات

الهدف من هذه العملية هو تقليب الكومات لتهويتها والإسراع من عملية التحلل وذلك كل سبعة أيام ، وتفيد هذه العملية في إبادة الكائنات الحية الدقيقة المرضية والطفيليات ويتم التقليب باستخدام ماكينات التقليب المخصصة لهذا الغرض ، وفي حالة تخمير القمامة في أبراج Towers يستعاض عن عملية التقليب بدفع الهواء المضغوط من أسفل وسحب الغازات المتراكمة من أعلى وذلك كل ثلاثة أيام وتستمر عملية التقليب حوالى ٤-٦ أسابيع .

٥- إضافة سائل المجارى الخام

تعتبر عملية إضافة سائل المجارى الخام إلي القمامة عند تحويلها إلي سماد عضوى عملية هامة جدا حيث يوفر سائل المجارى العناصر الغذائية اللازمة لنشاط الكائنات الحية الدقيقة اللازمة لعملية التخمير وخصوصا عنصر النيتروجين، كذلك يعمل سائل المجارى علي تشبع القمامة بالرطوبة كما يزيد من سرعة عملية التحلل، أثناء عملية التخمر تصل درجة الحرارة إلي ٦٠°م أو أكثر وهذه الدرجة كافية لإبادة كل الكائنات الحية الدقيقة المرضية والطفيلياتParasites، ومن علامات نضج السماد:

١-انخفاض درجة الحرارة وثباتها.

٢-سهولة تقطيع مكونات القمامة باليد.

٣-ظهور اللون البنى المسود.

٤-عدم انبعاث أى روائح كريهة.



شكل٤(١)-٤: تحويل القمامة إلى سماد عضوى

ويجب طحن السماد لأن هذه العملية تعتبر ضرورية ولها الكثير من الفوائد نوجزها فيما يلى:

أ) عند إضافة السماد المطحون إلي التربة نجد أن تحلله يكون سريعا بواسطة ميكروبات التربة.

ب) العمل علي تجانس السماد حتي يسهل توزيعه بالتساوى في التربة.

جـ) الحد من وقوف الذباب والحشرات الأخرى علي السماد المطحون.

د) توفير تكاليف نقل السماد من مراكز إنتاجه إلي أماكن استخدامه لأن الطن الواحد من السماد المطحون يشغل نصف الحيز الذى يشغله الطن غير المطحون.

ومما هو جدير بالذكر أن الكائنات الحية الدقيقة التي تقوم بعملية التخمير والتحلل لمكونات القمامة توجد علي القمامة نفسها ولا يلزمها إلا توفير الظروف المناسبة من التهوية والرطوبة حتي تنمو وتتكاثر وتفرز الإنزيمات اللازمة لعمليات التحلل المختلفة دون الحاجة إلي إضافة أى لقاحات أخرى.

القيمة السمادية لسماد القمامة

١- السماد العضوى الناتج من تخمير القمامة يشبه إلى حد ما في تركيبه السماد العضوى الصناعى Compost.

٢- تبلغ القيمة السمادية للمتر المكعب من هذا السماد ضعف القيمة السمادية للمتر المكعب من السماد البلدى.

٣- يستخدم هذا السماد علي نطاق واسع في تسميد محاصيل الخضر والفاكهة والمحاصيل الحقلية.

٤- يعتبر هذا السماد خالى من بذور الحشائش والميكروبات الضارة.

٥- يتميز هذا السماد بارتفاع محتواه من المادة العضوية والتي تزيد من قدرة الأراضي حديثة الاستصلاح New reclaimed علي الاحتفاظ بالماء.

ثالثاً: تحويل القمامة إلي سماد عضوى باستخدام ديدان الأرض

Conversion of garbage to organic manure using earthworm

من المعروف أن ديدان الأرض تلعب دورا هام في خصوبة التربة حيث تقوم بتحليل المادة العضوية بجانب أنها تحسن من تهوية التربة ، ولقد تم استغلال هذه الديدان في الفترة الأخيرة في تحويل المخلفات إلي أسمدة عضوية حيث تستخدم سلالات عالية القدرة في هدم المادة العضوية، وتعتبر عملية تحويل المخلفات العضوية سواء نباتية أو حيوانية وكذلك مخلفات الإنسانHuman wastes وقمامة المدن إلي أسمدة عضوية بواسطة هذه الديدان عملية ذات جانب اقتصادي كبير حيث تعتبر هذه العملية أقل التكلفة Lower cost ولا تحتاج إلي تكنولوجيا

معقدة ، ومما هو جدير بالذكر أن هذه الديدان ذات قدرة عالية في التكاثر حيث وجد أنها تتضاعف في الوزن ألف مرة خلال عام.

خطوات إنتاج السماد

١-تحضير لقاح ديدان الأرض وذلك بتنميتها علي مواد عضوية متحللة مع توفير الظروف المناسبة من درجة الحرارة من ٢٠-٢٥°م، ورطوبة تتراوح من ٦٠-٩٠٪.

٢-بعد ذلك تجرى عملية تلقيح لكومات المخلفات العضوية (القمامة) المطحونة.

٣-تجرى عملية رش للكومات من حين لأخر.

٤-بعد ظهور علامات النضج علي السماد يتم تجميع الكومات ويجفف السماد الناتج ويطحن ثم يعبأ ويخزن لحين الاستخدام.

صفات السماد الناتج Characteristics of produced manure

١- خلو السماد من بذور الحشائش والميكروبات المرضية.
٢- لا تنبعث أى روائح كريهة من السماد.
٣- ارتفاع محتوى السماد من العناصر المغذية الكبرى والصغرى.
٤- ارتفاع محتوى السماد من حمض الهيوميك والفولفيك.
٥- يحسن من خواص الأرض الطبيعية والكيميائية.

دور الكائنات الحية الدقيقة فى معالجة مياه الصرف الصحي لإنتاج السماد والطاقة

Role of microorganisms in sewage water treatment for manure and energy production

الماء سائل الحياة العجيب الذى ميزه الخالق سبحانه وتعالى بالعديد من الصفات الفيزيائية والكيميائية والحيوية التي جعلته حقاً سائل الحياة الفريد، وجعله الله بحق أعجب وأعظم سائل فلولاه ما كانت على الأرض حياة وبدونه لا يوجد سائل الدم وعصارات النباتات، ولولا الماء ما انتظمت درجة حرارة الأرض ولا تفتتت صخورها ولا تشققت تربتها الزراعية ولعجزنا عن إنبات حبة واحدة على سطح الأرض ، ولهذا تعد المياه أهم المصادر الطبيعية Natural sources على سطح الكرة الأرضية ولذا يجب التحكم في جودة المياه كلما أمكن لمنع تلوث البيئة.

مصادر مياه المخلفات Sources of waste water

مياه المخلفات هي المياه الناتجة عن استعمال مجتمع ما من المجتمعات السكانية وتشمل ما يلي:

١- مياه مخلفات المنازل وتشمل كل ما يتم صرفه عن طريق شبكات صرف المنازل من مطابخ وحمامات ودورات مياه ويطلق عليها مجتمعه مياه مخلفات المجاري.

٢- مياه مخلفات المصانع ويشمل ذلك مياه المخلفات بما فيها من أحماض وزيوت ومعادن ناتجة من مختلف الصناعات المعدنية والبترولية ومخلفات عضوية نباتية وحيوانية مثل ما ينتج من مخلفات مصانع السكر والورق والمصانع الغذائية والمبيدات ومصانع النسيج وصبغاتها.

٣- مياه مخلفات المزارع والحدائق وتحمل هذه المياه بقايا المخصبات والمبيدات والتي قد تصل لمواسير الصرف الزراعي.

٤- المياه الجوفية والسطحية التي تصل إلي مواسير صرف المدن والقري.

ومياه الصرف الصحي مرتبطة ارتباطا وثيقا بتلوث المياه والتربة ولهذا فإنه من الضروري والحتمي معالجة مخلفات مياه الصرف الصحي والمخلفات السائلة عموما معالجة متكاملة حتى لا تصل تلك المخلفات إلى مصادر المياه سواء استخدمت هذه المياه في أغراض منزلية أو ترفيهية أو في الزراعة.

ويجب أن تكون عملية معالجة وتنقية مياه الصرف الصحي والتخلص من المياه المعالجة والاستفادة منها عملية منظمة تراعي فيها جميع الظروف البيئية والاجتماعية والإنسانية، ولأن معظم محطات معالجة مياه الصرف الصحي هي محطات بيولوجية لذا تعد المعالجة البيولوجية Biological treatment من أهم نظم المعالجة نظرا لمميزاتها العديدة.

تنتج مياه الصرف الصحى من استهلاك المياه النقية فى الأغراض المنزلية وقد تختلط بها مياه الصرف الصناعى المعالج أو غير المعالج، ومياه الأمطار، ومياه غسيل الشوارع، ومياه الرشح،

وتحتوى مياه الصرف على ملوثات وشوائب ويتباين محتوى مياه الصرف بالملوثات حسب مدة بقاء مياه الصرف الصحى فى الشبكة، ودرجة تركيز الملوثات من المواد الصلبة والعضوية والكائنات الدقيقة.

ولقد أصبحت مشكلة حماية البيئة المائية فى الوقت الراهن الهدف الأساسى بالنسبة لكل دول العالم مجتمعة لأن أهم قضية تتعلق بعصب الحياة بالنسبة للإنسان والحيوان والنبات هى قضية توافر الموارد المائية Water resources الصالحة للعمليات الحيوية.

كذلك فقد أصبح حل مشكلة تلوث البيئة المائية أكثر تعقيداً فى مصر بسبب الاستخدام المكثف والواسع النطاق للمبيدات الكيمائية المختلفة فى الزراعة لحماية المزروعات من الآفات ، ولمقاومة الأمراض لرفع إنتاجية وحدة المساحة المزروعة بالإضافة إلى زيادة النشاط الصناعى وما نتج عنه من ظهور أنواع جديدة من الملوثات حيث يعتبر الصرف الصناعى من أهم مصادر التلوث لمياه النيل والمصارف، ومما زاد من الأثر السلبى للبيئة الناتج عن هذه الصناعات هو عدم الاهتمام بالمراجعة والتفتيش لتنفيذ القوانين الخاصة بحماية البيئة بالإضافة إلى الزيادة السكانية السريعة ، وظهور تجمعات عشوائية عديدة ، ولذلك كان لابد من الاهتمام بمعالجة مياه الصرف الصحي وإعادة استخدامهاReusing للاستفادة منها والمحافظة على البيئة وصحة المواطنين.

الأخطار الناجمة عن مياه الصرف الصحى غير المعالج

Risks produced from non-treated sewage water

إن الأخطار الرئيسية التى تكمن في مياه الصرف الصحي تتمثل في الميكروبات المرضية التى تنتقل مع مياه الصرف والحمأه والتى يمكن أن تتسبب الكثير من الأمراض، ومن أهم هذه الميكروبات المرضية الموجودة في مياه المجارى البكتريا الممرضة والتى تسبب مرض التيفود والكوليرا والدوسنتاريا وغيرها من الأمراض الأخرى المعدية والبروتوزوا (الكائنات الأولية) وهي كثيرة الانتشار في مياه الصرف الصحي وبعضها تسبب مرض الدوسنتاريا الأميبية بالإضافة إلى الفطريات الممرضة Pathogenic fungi.

يوجد أثار سلبية خطيرة لمياه الصرف الصحي تؤثر على حياة الإنسان والمجتمع بطريقة مباشرة وهي الأثار البيئية الناتجة عن صرف مياه الصرف الصحى فى مياه البحر مما يؤدى إلى تشويه النواحى الجمالية للشواطئ وانتشار الكثير من الأمراض على المناطق الساحلية مما يؤدى إلى أضرار صحية جسيمة لمرتادى هذه الشواطئ وعلى البيئة البحرية هذا بالإضافة إلى انتشار الروائح الكريهة المتمثلة في غاز كبرتيد الهيدروجين والذى يؤثر على الجهاز العصبي ويسبب أمراض العيون والحساسية Allergy.

ونظرًا للتقدم العلمى **Scientific advancement** في كثير من المجالات والاهتمام المتزايد بحماية البيئة من التلوث فقد زادت القيود على التخلص من مياه الصرف الصحي وخاصة الناتجة عن المناطق الصناعية حيث لا يسمح بالتخلص منها بصرفها إلى البحر أو دفنها في الأراضى الفضاء ، وأصبح لزاما على كثير من الصناعات وخاصة التى تنتج مخلفات شديدة التلوث أن تعالج هذه المخلفات داخل المصانع بصورة كافية عن طريق محطات تنقية خاصة قبل تصريفها إلى شبكات الصرف الصحى أو التخلص منها بأى طريقة أخرى.

وتعد مياه الصرف الصحى أهم مصادر التلوث لاحتوائها على مجموعة من الملوثات منها المواد العضوية القابلة للتحلل البيولوجى **Biological decomposition** حيث تتكون المركبات العضويـة من بروتينات (٤٠-٦٠ ٪) وكربوهيدرات (٢٥-٥٠ ٪) ودهون وزيوت (١٠٪)، ويوجد نوع أخر من المواد الذائبة الغير عضوية مثل الكالسيوم والصوديوم والكبريت وتتواجد هذه المواد من خلال الاستخدام المنزلى وهذه المواد يكون أساس تكوينها من المخلفات المنزلية التى تلقى فى مياه الصرف الصحى وكذلك مخلفات المصانع.

وتحتوى أيضاً مياه الصرف الصحى على مركبات عضوية ضارة مثل المبيدات الحشرية والزراعية والمواد الفينولية والمنظفات الصناعية والمعادن الثقيلة الناتجة من الأنشطة التجارية والصناعية.

ويوجد أيضا العديد من البكتريا المرضية التى تنتشر فى مياه الصرف منها السالمونيللا وهى عبارة عن نوع من أنواع البكتريا التى تسبب مرض الحمى التيفودية، لذلك تعد معالجة مياه الصرف الصحي وإعادة استخدامها ضرورة حتمية لما تمثله هذه المياه من مصدر إضافي وغير تقليدى ومتجدد **Renewable** للمياه نظراً لمحدودية الموارد المائية ولتلبية الحاجة المتزايدة للمياه فى مصر ولما تحتويه من عناصر غذائية يحتاجها النبات إضافة إلى تحقيق الشروط الخاصة بالتخلص من هذه النوعية من المياه بطريقة أمنة وعملية.

أهمية معالجة مياه المجاري Importance of sewage treatment

١- منع انتشار الكائنات الحية الدقيقة المرضية.

٢- منع تلوث المياه التي ستلقي بها مياه المجاري المعالجة حفاظا علي صحة مستخدمي هذه المياه في الشرب أو الاستحمام وللمحافظة أيضا علي الثروة المائية نباتية كانت أو حيوانية مثل الأسماك والشعب المرجانية والطحالب التي تعتبر مصدر لغذاء الأسماك.

٣-التخلص من المواد العضوية وما ينتج عن تحللها من روائح كريهة أو تجمع لرواسب غير مقبولة.

٤- استعمال المخلفات كأسمدة عضوية أو كمصادر للطاقة المتمثلة في الغاز الحيوي(البيوجاز).

مكونات مياه الصرف الصحى Components of sewage water

تتكون مياه المجارى من المخلفات المنزلية والتى تشمل بقايا الدهون والأطعمة والمنظفات الصناعية المستعملة في الغسيل والتنظيف والمواد العضوية والمخلفات الآدمية كذلك المخلفات الصناعية وهي المياه المتخلفة عن المصانع وتحتوى على نسب مختلفة من المواد العضوية والكيماوية وهذا بالإضافة إلى مياه الشطف لساحات المنازل حاملة معها الأتربة وبعض المواد العالقة.

الخصائص الفيزيائية والكيمائية والبيولوجية لمياه الصرف الصحى

Physical, chemical and biological characteristics of sewage water

يمثل المحتوى الكلى من المواد الصلبة أهم الخصائص الفيزيائية لمياه الصرف الصحى بما يشمله من مواد طافية ومواد عالقة ومواد مذابة، هذا بالإضافة إلى كل من الرائحة ودرجة الحرارة واللون والمواد الصلبة وهى عبارة عن جميع المواد المتبقية نتيجة لعملية تبخير المياه على درجة حرارة ١٠٥° م وهى تنقسم إلى مواد صلبة عالقة ومواد صلبة قابلة للترشيح.

الخصائص الفيزيائية Physical characteristics

أ . الرائحة

مياه الصرف الصحى عكرة راكدة عندما تتحلل بها المواد العضوية تكون رائحتها غير مقبولة وتعطى رائحة البيض الفاسد والمسبب لذلك هو كبريتيد الهيدروجين الناتج من التحليل اللاهوائي للمواد العضوية.

ب . درجة الحرارة

دائماً تكون درجة الحرارة لمياه المجارى مرتفعة عن درجة حرارة الهواء ، ويؤدى ارتفاع درجة حرارة المياه إلى تأثر الحياة السمكية.

جـ . اللون

يكون لون مياه المجارى الخام رمادى وهذا يعنى أن مياه المجارى جديدة، تحول اللون إلى اللون الأصفر ثم الأسود يدل على تحلل المواد العضوية بفعل البكتريا وانخفاض تركيز الأكسجين الذائب.

الخصائص الكيمائية Chemical characteristics

تمثل المواد العضوية نسبة حوالى ٧٥ ٪ من المواد الصلبة العالقة ، ٤٠ ٪ من المواد القابلة للترشيح وهى تنتج من الأنشطة الأدمية والحيوانية ، وتتكون المواد العضوية من الكربون والهيدروجين والأكسجين مع النيتروجين كما تحتوى على بعض المواد الهامة مثل الكبريت والفوسفور والحديد.

ويعتبر الاحتياج الأكسجينى الحيوى Biological oxygen demand هو المعيار الأساسي لتحديد معدل التلوث العضوى فى مياه الصرف الصحى حيث يستخدم فى قياس المحتوى الكلى من

المواد العضوية فى مياه الصرف الصحى لتحديد كمية الأكسجين اللازمة لأكسدة كافة المواد العضوية باستخدام مادة كيمائية قوية الأكسدة .

الخصائص البيولوجية Biological characteristics

تحتوى مياه الصرف الصحى على مجموعات رئيسية من الكائنات العضوية وهى:

١ . بروكريوتا وهى أهم المجموعات وتتكون من الطحالب والبكتريا المرضية.

٢ . الفيروسات وتتواجد فى المخلفات البشرية الملقاة فى مياه الصرف الصحى.

٣ . الكائنات الحية الدقيقة المعدية وتوجد فى مياه الصرف الصحى حيث تصل إليها من قبل براز الأشخاص حاملى المرض والعدوى مثل أمراض التيفود والكوليرا والدوسنتاريا.

ونظرا لاختلاف تركيب مخلفات مياه المجارى، فان ما تحمله المخلفات من أحياء دقيقة تكون عرضة للتغير نوعا وكما، وعموما فإن المخلفات تحتوي علي بروتوزوا وفطريات وطحالب وبكتريا وفيروسات.

تصل أعداد البكتريا بمياه المجاري الخام إلي الملايين في كل ملليلتر، ومعظمها بكتريا القولون ويليها في العدد الإستربتوكوكاى ، ثم العصويات المتجرثمة اللاهوائية مثل ***Clostridium perfringens*** وباقي أنواع البكتريا الموجودة بالجهاز المعوي الأدمي ، وبالإضافة إلى ذلك فيوجد بمياه المجارى ميكروبات مرضية من بروتوزوا وبكتريا وفيروسات مثل تلك المسببة لأمراض التيفود والكوليرا والدوسنتاريا وشلل الأطفال والالتهاب الكبدي الوبائي.

ويعتبر معالجة مياه المجارى عملية ضرورية لتجنب خطورتها، وما تسببه من مشاكل بيئية. وفى المزارع والأرياف يتم التخلص من مخلفات المجارى دون معالجة بتجميعها في خزانات كسح تفرغ كل مدة وتستعمل محتوياتها كسماد عضوي بعد إضافة مسحوق الجير الحى لقتل ما بها من ميكروبات حية ممرضة.

ومما هو جدير بالذكر إن بعض المجتمعات الصغيرة تتخلص من مخلفات المجارى دون معالجة بطريقة التخفيف Dilution method وذلك بإلقائها فى أحجام كبيرة من الماء مثل نهر أو بحر أو بحيرة فيحدث تخفيف لتلك المخلفات. وفى هذه الطريقة يجب أن تكون النسبة بين مياه المجارى الملقاة ومياه النهر أو البحر نسبة متسعة جدا لا تقل عن١: ٥٠ حتى يتوفر باستمرار، كمية مناسبة من الأكسجين الذائب فى الماء وكافية للأكسدة البيولوجية واستمرار الحياة المائية، وفى طريقة التخفيف بالماء يجب أن تلقى مياه المخلفات من خلال مواسير تمتد إلى الداخل بعيدا عن الشاطئ لمسافة لا تقل ٥٠ مترا وعلى عمق لا يقل عن ٥٠٠ مترا محافظة على صحة مستخدمي هذه المياه سواء فى الشرب Drinking أو الاستحمام Bathing أو الصيد Fishing.

وعند إلقاء مياه المجارى فى النهر أو البحر تحدث لمياه المجارى عملية تنقية ذاتية حيث

يتحلل ما بتلك المياه من مواد عضوية تحت ظروف هوائية، بأكسدتها بيولوجيا بواسطة الكائنات الحية الدقيقة عضوية التغذية من بكتريا وفطريات وطحالب وبروتوزوا وبذلك تتحلل المواد العضوية وتتمعدن، فلا تجد الكائنات الحية الدقيقة المرضية الموجودة بمياه المجارى مصدرا كافيا Sufficient source لها من الغذاء والطاقة فتموت.

وإذا كانت عملية التخفيف ممكنة بالنسبة للمجتمعات صغيرة العدد إلا أنها فى المدن الكبيرة تصبح طريقة التخلص من مياه المجارى غير المعالجة بطريقة التخفيف غير فعاله بل وضارة لزيادة كمية مياه المجارى الملقاة وضيق نسبة التخفيف اللازمة وما يترتب على ذلك من قلة نسبة الأكسجين الذائب بالماء اللازم للاستهلاك بواسطة الكائنات الحية الدقيقة الهوائية لتحليل المواد العضوية وبناءً عليه تنشط وتسود الكائنات الحية الدقيقة الاختيارية واللاهوائية وبذلك تتحلل المواد العضوية لمخلفات المجارى تحت ظروف لاهوائية فتظهر روائح كريهة غير مستحبة وتتلوث المياه وتموت الأسماك والأحياء المائية.

لذلك يتحتم ضرورة معالجة مياه المجارى كيماويا وبيولوجيا قبل التخلص منها لما فى ذلك من مزايا عديدة، والأساس فى عملية المعالجة هو تحليل ما بمياه المجارى من مواد عضوية والقضاء على ما تحتويه من ميكروبات مرضية.

الأثار السلبية لاستخدام مياه الصرف الصحى غبر المعالج فى الرى

Negative effects of sewage water using in irrigation without treatment

يجدر الإشارة إلي أن استخدام مياه الصرف الصحى في رى المحاصيل بدون معالجة يؤدى إلي الكثير من الأضرار حيث تحتوى مياه الصرف الصحى علي الكائنات الحية الدقيقة المسببة للتيفود والباراتيفود والكوليرا والدوسنتاريا والنزلات المعوية علاوة علي بعض الطفيليات المتوطنة مثل الإسكارس.

وتختلف أنواع الميكروبات وأعدادها فى مياه المجارى تبعا لاختلاف تركيب المخلفات السائلة ، وعموماً فإن من أهم أنواع الميكروبات الممكن تواجدها هى:

Escherichia coli, Enterobacter aerogenes , Klebsiella sp. *Enterococcus faecalis, Campylobacter* sp. *Salmonella paratyphi* (A,B,C). *Salmonella typhi, Salmonella typhimurium, Salmonella interica , Salmonella interiditis, Shigella sonnei, Vibrio cholera, Vibrio parahaemolyticus, Staph. Aureus, Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Clostridium*

perfringens, Listeria monocytogenes, Mycobacterium tuberculosis, Pseudomonas aeruginosa.

وهناك مجموعة من الملاحظات الهامة فى المياه غير المعالجة يمكن اجمالها فى:

– يتراوح عدد الكائنات الحية الدقيقة الممرضة في المياه غير المعالجة ما بين ١٠ ^{٥} – ١٠ ^{٧} خلية / سم٣ ، وتؤدى المعالجة إلي التخلص من ٩٠–٩٩٪ من هذه الكائنات الحية الدقيقة.

– العديد من هذه المسببات المرضية يستمر نشاطها ومدة بقائها في التربة إلي عدة شهور وهذا يؤدى إلي انتشارها ووصولها إلي الإنسان والحيوان.

– زيادة كميات النترات التى تلوث المياه الجوفية: حيث يعتبر محتوى الحمأه من الأزوت هو العنصر الرئيسي المحدد لاستخدامها فى الزراعة ، لأن إضافة محتوى عال من الأزوت إلى التربة قد يؤدى إلى زيادة كميات النترات التى تتسرب إلى المياه الجوفية وتلوثها.

– تراكم العناصر الثقيلة داخل النباتات: حيث تؤدى التركيزات العالية للعناصر الثقيلة Heavy metalsإلى تسمم النبات.

– انتشار الأمراض بين العاملين : حيث يتعرض العمال فى المزارع التى تروى بمياه الصرف الصحى غير المعالجة للإصابة بالعديد من الأمراض مثل التيفود والدوسنتاريا والفشل الكلوى والالتهاب الكبدى الوبائى فى حالة عدم استخدامهم الشروط الوقائية Precautionary اللازمة.

– إصابة الأسماك بالتلوث : حيث يوجد العديد من المزارع السمكية التى تستخدم مياه الصرف الصحى الخام فى تربية الأسماك فى بحيرات الأكسدة باستخدام الطحالب النامية فى البحيرات كطعام مفيد للأسماك.

– تكاثر الحشرات فى المزارع التى تستخدم مياه الصرف الصحى أو الحمأه :حيث يتكاثر الذباب والبعوض بدرجة ملفتة للنظر وما ينتج عنه من نقل الأمراض للإنسان والتى تكلف وزارة الصحة ملايين الجنيهات سنوياً.

مما سبق يتضح أن أهم مخاطر استخدام مياه الصرف الصحى ومنتجاتها تتركز فى أثارها السلبية على البيئة وصحة الإنسان ، لذلك يجب أن تراعى المعايير البيئية الحالية والمستقبلية عند استخدامها فى الزراعة.

طرق معالجة مياه المجاري Methods of sewage water treatment

الغرض من ذلك هو الحصول علي مياه تصلح للري بالإضافة إلي الحصول علي رواسب تصلح كسماد عضوي، ويتم معالجة مياه الصرف الصحي علي ثلاث خطوات رئيسية هي المعالجة الطبيعية والمعالجة البيولوجية والمعالجة الكيميائية كما يتضح من [شكل ٥ (١) –١].

١ – المعالجة الطبيعية (الابتدائية) Primary treatment

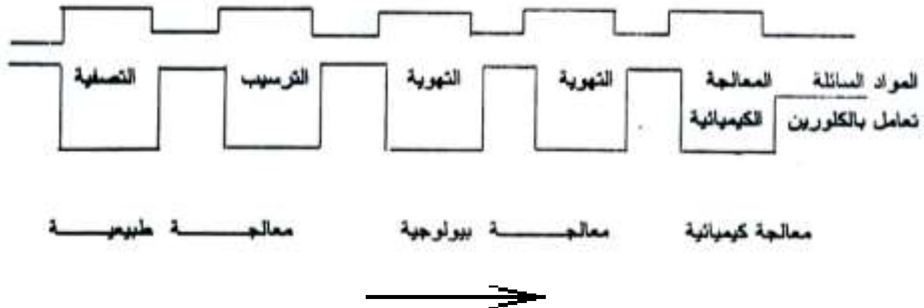
في البداية تجمع مياه المجارى في مواسير مغلقة بعيدة عن مواسير مياه الشرب وترسل إلى خارج المدينة لمعالجتها، ويتم ذلك بالتخلص من المواد الصلبة الضخمة والأحجار والأخشاب والزجاج والأسلاك وذلك بإمرار المياه على حواجز على شكل قضبان تعمل كمصفاة لفصل تلك المواد الصلبة، وعند إمرار مياه الصرف الصحي علي مصافي لحجز الأجزاء الكبيرة من المواد المعلقة يتم سحبها باستمرار حتي لا تحدث مشاكل في عمليات المعالجة ثم يمرر الجزء الرائق إلي خزانات الترسيب حيث يترك عدة ساعات ليتم خلالها رسوب المواد المعلقة (وتستخدم الرواسب بعد تجفيفها كسماد عضوي) ، ولسرعة هذه العملية يتم إضافة المواد الكيماوية (كبريتات الألومونيوم والبوتاسيوم) ثم يتم سحب الجزء الرائق إلي الخطوة التالية، ويرسب فى قاع الحوض الراسب ويسمى حمأة حيث تجمع وتعالج أما السائل فإنه يعالج بيولوجياً وكيماوياً قبل الاستعمال، وعند إضافة الشبه أو كبريتات الحديديك إلى مياه المجاري تتكون الأيدروكسيدات وحمض الكبريتيك حسب المعادلات التالية:



$$Al_2(SO4)_3+6H_2O \longrightarrow 2Al(OH)_3 + 3H_2SO_4$$



$$Fe_2(SO4)_3+6H_2O \longrightarrow 2Fe(OH)_3+3H_2SO_4$$



شكل ٤ (١) ٥: خطوات معالجة مياه الصرف الصحي

٢ – المعالجة البيولوجية Biological treatment

الطرق الحديثة لمعاملة مياه المجارى والمخلفات الصناعية قبل صرفها تعتمد أساساً على العمليات التخميرية التى تقوم بها البكتريا , والفكرة الأساسية فى هذه العمليات هى إزالة المواد الصلبة وخفض متطلبات الأكسجين الحيوية(BOD) Biological oxygen demand والتى تعرف على أنها عدد المليجرامات من الأكسجين التى تستهلك خلال مده محدده (عادة خمسة أيام) أثناء الأكسدة الميكروبيولوجية للمادة العضوية الموجودة فى لتر واحد من مياه المجارى عند درجة حرارة ٢٠ ° م.

والصرف المباشر (بدون معامله) للمخلفات التى لها BOD عالى فى المصارف والأنهار يسبب

خطورة شديدة على الصحة العامة والحياة المائية لأن البكتريا الممرضة التى توجد فى مياه المجارى يمكن أن تؤدى إلى انتشار الأوبئة كذلك فان استهلاك الأكسجين الذائب فى الماء بواسطة بكتريا التلوث يعتبر مشكله خطيرة، وبالرغم من أن الأكسجين الذائب فى الماء واللازم لاستمرار الحياة المائية كميته محدودة إلا أنه يبقى فى حالة اتزان بواسطة عمليات التهوية الفيزيائية التى تحدث للمياه بشكل طبيعى، لكن تدفق مخلفات المجارى ومخلفات الصناعة المائية القابلة للتخمر فى المياه الطبيعية يؤدى لتكاثر سريع للبكتريا ويصحب ذلك استهلاك للأكسجين المتاح خلال عمليات التنفس بمعدل أكثر من معدلات التهوية الفيزيائية التى تحدث للمياه بشكل طبيعى فتكون النتيجة هى نقص الأكسجين الذائب فى الماء وعلى ذلك فان الظروف اللاهوائيه الناتجة ينتج عنها فقد للحياة المائية وتوليد رائحة كريهة ناتجة من تحلل المادة العضوية.

الأساسيات العامة للمعالجة الحديثة للمخلفات السائلة ومياه المجارى

١- الطريقة الهوائية لمعالجة المخلفات المائية Aerobic treatment

بدأت أبحاث معالجة المخلفات المائية فى مانشستر عام ١٩١٠م وكانت هذه المعالجة ببساطه عبارة عن تهوية المخلفات لتقوم البكتريا بإزالة المواد العضوية عن طريق الأكسدة الهوائية ومعظم المخلفات السائلة بما فيها مخلفات المجارى المنزلية تنقل فى أنابيب مغلقه إلى محطة معالجة المخلفات ولكى يتم المعالجة بهذه الطريقة بنجاح يجب ألا تزيد قيمة ال BOD عن ٢٠٠ مجم/ لتر، ولذلك فان المخلفات الصناعية التى لها BOD فى المدى ١٠٠٠-١٠٠٠٠ مجم/لتر يتم تخفيفها قبل معاملتها غير أن هناك محطات متخصصة فى معالجة المخلفات التى لها BOD عالى باستخدام طريقة الحمأه النشطة ، وتنقية المخلفات السائلة إلى الدرجة التى تسمح بصرفها فى المياه الجارية تعتمد على النشاط التمثيلى للبكتريا وهذا يعتمد على تهيئة الظروف المثلى لنمو البكتريا من حيث الأكسجين ودرجة الحموضة والقلوية (pH) والكربون والنيتروجين والفوسفور. وفى المعالجة الهوائية تقوم البكتريا بأكسدة المواد العضوية إلى ثانى أكسيد الكربون وماء، ينطلق ثانى أكسيد الكربون إلى الغلاف الجوى ويصرف الماء إلى مصارف طبيعية ويبقى بعد ذلك راسب عبارة عن مواد ذائبة مختلطة مع المواد الخلوية ولذلك فان هذا الراسب يحتوى على مواد غذائية جيده بالنسبة للبكتريا وإذا ترك فتره بعد فصله يحدث له هضم ذاتى بواسطة الخلايا ويمكن التخلص منه بعد ذلك دون أن يكون له أثر ضار.

٢- طريقة الحمأه المنشطة (Activated sludge) لمعالجة المخلفات المائية

الحمأه النشطة عبارة عن رواسب مخلفات مجارى حديثة المعالجة غنية بالكائنات الدقيقة من بروتوزوا وفطر وخميرة وبكتريا، وتضاف كبادئ في أحواض المعالجة البيولوجية فتساعد تحت الظروف الهوائية على سرعة تحلل ومعدنة المواد العضوية الموجودة بمياه المخلفات.

في سنة ١٩١٤م تطورت قليلا عملية المعالجة الهوائية حيث كانت المخلفات المائية تنقل إلى أحواض وتتم تهويتها لفترة معينه ثم تترك فتره حتى تترسب المكونات الثقيلة ثم تنقل المياه الرائقة إلى أحواض أخرى وتملئ الأحواض الأولى بمخلفات مائية جديدة وهكذا حتى تتراكم كميه معينه من الرواسب فيتم تهويتها جيدا لمدة ٦ ساعات وذلك لتنشيط البكتريا التى توجد فى هذه الرواسب وسميت هذه الرواسب بالحمأه المنشطة ومنذ ذلك الوقت عرفت طريقة الحمأه المنشطة لمعالجة المخلفات المائية حيث تحتوى مياه المجارى على مخلفات المنازل والمصانع وهى عبارة عن محلول مخفف لمواد عضويه وغير عضويه وبها مواد صلبه معلقه وخليط من البكتريا مصدرها الرئيسى براز الإنسان ومياه الصناعة غير المرشحة.

وبالنسبة لمواد اليوريا والأمونيا وثانى أكسيد الكربون التى توجد فى مياه المجارى فان الهدم البكتيرى لها يكون سريعا حتى انه قبل أن تصل مياه المجارى إلى محطات المعالجة ، وقبل بدء المعالجة لابد من معرفة نسب المواد العضوية (النيتروجين والفوسفور) حيث تلعب هذه النسب دور هام فى صلاحية المخلفات للمعاملة الميكروبيولوجية وقد وجد أن نسبة BOD إلى النيتروجين التى تساوى ١:٣٠ ونسبة BOD إلى الفوسفور التى تساوى ١:١٥٠ هى النسب المثلى لتطبيق طريقة الحمأه المنشطة لمعالجة المخلفات.

وبصفة عامه فإن محطة معالجة المخلفات المائية بطريقة الحمأه المنشطة تشمل أربعة خطوات رئيسيه هى كما يلى:

١- التهوية فى حوض ا لتهوية المزود بأجهزة ميكانيكيه تضخ الهواء مع تقليب المخلفات المائية بما تحتويه من مواد عضويه لتخلط جيدا بالأكسجين.

٢- الترويق فى الحوض المخصص لذلك حيث تترسب جميع المكونات الثقيلة المكونة من مواد عضويه فى قاع الحوض.

٣- إعادة المخلفات المائية المحتوية على مواد معلقه مره أخرى إلى حوض التهوية.

٤- سحب الزائد من الرواسب المستقرة فى قاع حوض الترويق.

وإذا لم تنجح واحده من الخطوات السابقة لاتنجح العملية كلها وتبدأ المعالجة بعزل المواد الطافية والمواد الصلبة الخشنة المعلقة أثناء دخول مياه المجارى إلى محطات المعالجة حيث يتم سحق المواد الصلبة وإعادتها مره أخرى فى المجرى الرئيسى المؤدى إلى داخل المحطة .بعد ذلك تمر مياه المجارى فى مجرى به رمل خشن وذلك لترسيب الرمل والمعادن الثقيلة الصلبة.

ثم يتم إدخال المياه بعد ذلك والتى هى عبارة عن معلق من المواد الصلبة الدقيقة بالإضافة إلى المواد الذائبة إلى خزان الترسيب حيث تترسب الأجزاء الثقيلة فى شكل حماه وتزال هذه الحمأه من خزانات الترسيب وتسمى بالحمأه الخام ثم تعامل منفصلة تحت ظروف لاهوائية ، أما الراشح فيتم إدخاله إلى

خزان التهوية حيث تضبط الحالة الغذائية إذا لزم الأمر بإضافة النيتروجين أو الفوسفات أو أى عناصر غذائية أخرى مطلوبة ثم يضاف إلى الخزان لقاح من الحمأه المنشطة ، وهذا اللقاح عبارة عن كتله من الحمأه تم تهويتها ميكانيكيا بواسطة ضخ الهواء إليها لينمو بها أكبر عدد ممكن من خليط البكتريا ومعظمها من البكتريا الهلامية.

ويجب أن تكون قيمة BOD فى المخلفات الداخلة إلى خزانات التهوية متناسبة مع معدل الإمداد من الأكسجين الذائب. وفى طريقة الحمأه المنشطة لمعالجة المخلفات يمكن استخدام مياه لها BOD يتراوح من ٣٠٠٠-٥٠٠٠ مجم/لتر حيث يحدث نمو سريع للبكتريا يصاحبه إزالة للمواد العضوية الغير ذائبة عن طريق الأكسدة وعن طريق استخدام هذه المواد كمواد بناء للخلايا أو مواد مخزنه داخل الخلايا أو عن طريق ادمصاصها على الكتل المتلبدة. وبعد نفاد المواد الغذائية تبدأ الخلايا فى التحلل ويقل عدد البكتريا وخلال هذه المرحلة تتكون المواد السطحية بما يصاحبها من رغاوى ثم يتم بعد ذلك إدخال السائل إلى خزان الترسيب للمرة الثانية حيث تترسب الحمأه التى تسمى فى هذه الحالة بالحمأه المتزنة ويتم فصلها ،أما السائل الرائق فإما أن يعامل بالكلور أو تعاد تهويته قبل صرفه فى المصارف السطحية، وقد تطورت طريقة الحمأه المنشطة لمعالجة المخلفات المائية مع بقاء الأسس الأربعة التى سبق الإشارة إليها فقد تطورت عملية التهوية التى كانت تتم عن طريق مواسير من السيراميك مغمورة تحت السطح وتضخ الهواء فى شكل فقاقيع وعندما ظهرت مشكلة انسداد هذه المواسير تم تطويرها إلى مواسير رأسيه ذات شكل مخروطى ويضخ الهواء من فتحات مغمورة لمسافة قصيرة.



شكل ٤(١) -٦: معالجة مياه الصرف الصحي بالحمأه النشطة

وفى سنة ١٩٧٠م تم إدخال نظام نشر الهواء عن طريق أغشية معينه مع وجود تقليب مستمر لمنع ترسيب المواد العالقةSuspended materials بحيث لا تعوق عملية ضخ الهواء المستمرة وحتى

لا تتلف الأغشية ، أما بالنسبة للأحواض العميقة فقد تم تطوير توربينات تهويه دواره خاصة بها وهذه التوربينات مزوده بمقلبات خاصة تمنع ترسيب المواد العالقة على فتحات خروج الهواء.

كما حدث تطور أخر فى عملية التهوية عندما لوحظ أنها دائما ما تكون غير كافيه للحصول على نمو كافى من البكتريا لذلك زودت كثير من محطات المعالجة فى ألمانيا والولايات المتحدة الأمريكية بنظام التهوية بالأكسجين النقى.

وفى تطور أخر للمعالجة بطريقة الحمأه المنشطة تم إمداد أحواض التهوية بمواد تساعد على نمو البكتريا وهذه المواد قد تكون فى شكل مسطحات من البلاستيك مغمورة فى الأحواض كما تم فى ألمانيا سنة ١٩٨٦م أو تملئ أحواض التهوية حتى ٤٠٪ من حجمها بخرز من ال Polypropylene لا يتعدى قطر الواحدة ٤مم كما تم فى اليابان سنة ١٩٩٥ م حيث تكون أسطح هذا الخرز مناسبة لنمو البكتريا . وبعد تطوير أغشية الترشيح زودت بعض محطات معالجة المخلفات المائية بوحدات الترشيح فوق العالي Ultrafiltration أو الترشيح الفائق كما يسمى فى بعض البلاد العربية، حيث تمرر المخلفات المائية بعد إزالة الكتل الصلبة الكبيرة من خلال هذه الوحدات . وقد وجد أن الراشح يكون خالى تقريبا من أى عوالق عندما طبق هذا النظام فى بعض المحطات فى الولايات المتحدة الأمريكية سنة ١٩٩٨ م وعلى أى حال فما زال هذا النظام مكلف وغير اقتصادي ولذلك يقتصر تطبيقه على بعض الحالات الخاصة.

المعالجة اللاهوائية للمخلفات المائية Anaerobic treatment

انتشرت حديثاً فى كثير من البلاد المتقدمة مثل ألمانيا والولايات المتحدة الأمريكية عملية معالجة المخلفات المائية تحت ظروف لاهوائية وأثناء عملية الهدم اللاهوائى تتحول المادة العضوية إلى غازى الميثان وثانى أكسيد الكربون فى خطوات متميزة عن بعضها البعض عن طريق مجموعات مختلفة من البكتريا ويمكن تحديد هذه الخطوات فى ثلاثة مراحل هى:

المرحلة الأولى First stage

تقوم فيها البكتريا الغير ذاتية التغذية مثل ***Bacillus cereus*** ، ***Micrococcus*** ، ***Bacteriods*** ، ***Clostridium*** بتحليل المركبات العضوية المعقدة مثل عديدات التسكر والبروتينات والليبيدات ثم تقوم هذه البكتريا بتخمير نواتج تحلل هذه المواد حيث ينتج عن هذا التخمير أحماض دهنيه طويلة السلسلة والخلات والفورمات وحمض البروبيونيك والهيدروجين والأمونيا وكحولات مختلفة وأحماض أمينيه ومركبات أروماتية.

المرحلة الثانية Second stage

تقوم فيها مجموعة من البكتريا تسمى عادة Syntrophic bacteria بهدم الأحماض الدهنية طويلة السلسلة وحمض البروبيونيك والكحولات المختلفة وبعض الأحماض الأمينية

والمركبات الأروماتية إلى المواد الأولية لإنتاج غاز الميثان وهى الهيدروجين والخلات والفورمات.

المرحلة الثالثة Third stage

تقوم بها مجموعات كبيره ومتنوعة من بكتريا الميثان حيث توجد مجموعه تستخدم الهيدروجين والفورمات الناتجين من المرحلة الثانية لاختزال ثانى أكسيد الكربون إلى ميثان تسمى Hydrogenotrophic methanogens، وتوجد مجموعه أخرى تمثل الخلات وتحولها إلى ميثان وثانى أكسيد الكربون.

تعالج السوائل الناتجة من المعالجة الابتدائية بيولوجيا وذلك للتخلص مما بها من مواد عضوية ، وذلك بأكسدتها ومعدنتها إلى كحولات وأحماض عضوية وأخيرا إلي H_2S, NH_3, H_2O, CO_2.

ويتم ذلك فى أحواض تسمي أحواض المعالجة البيولوجية بإضافة الحمأه النشطة مع توفير الظروف الهوائية حيث يجري عملية تهوية وذلك للعمل علي تنشيط البكتريا الهوائية لأكسدة المواد العضوية الموجودة بالماء والتخلص منها تحت ظروف المعالجة البيولوجية الهوائية بالحمأه النشطة حيث تتكون أملاح الفوسفات والنترات ، ويمكن التخلص من هذه الأملاح بمعالجة المخلفات بيولوجيا تحت ظروف لاهوائية.

عقب المعالجة البيولوجية تفصل الرواسب وتؤخذ السوائل وتمرر على مرشحات رملية حيث تتوفر الظروف الهوائية والميكروبات لاستكمال تحلل ما تبقى من مواد عضوية بالسوائل، ثم بعدها تنقل المواد السائلة إلي المرحلة النهائية والخاصة بالمعالجة الكيميائية.

٣-المعالجة الكيميائية (النهائية) Chemical treatment

تعالج السوائل الناتجة من المرشحات بالكلور أو الأوزون للتخلص مما بها من ميكروبات مرضية، يستفاد من السوائل الناتجة بعد المعالجة في ري الأشجار أو استصلاح الأراضي أو يتخلص منها بإلقائها فى نهر أو بحر.

(الباب الرابع-الفصل الثانى)

معالجة المواد الصلبة Treatment of solid materials

تجمع المواد الصلبة الناتجة من أحواض الترسب أو من أحواض المعالجة البيولوجية وتعالج كما يلي:

أ- تخفف فى أحواض خاصة ثم تكشط وتدق وتنعم وتستعمل كسماد عضوى يسمي سماد المجاري المجفف.

ب- تخمير المواد الصلبة لاهوائيا لإنتاج الغاز الحيوى (البيوجاز) الذي يستخدم في الإنارة وكبديل للوقود .

ج- معالجة الحمأه Sludge treatment

الحمأه هى المواد الصلبة التى يتم فصلها خلال مراحل المعالجة فى أحواض الترسيب وتهدف هذه المرحلة إلى أكسدة المواد العضوية التى لم يتم أكسدتها فى المرحلة البيولوجية وتحويلها إلى مركبات عضوية بسيطة غير ضارة بالبيئة وذلك باستخدام البكتريا الهوائية واللاهوائية .

مكونات الحمأه Sludge components

تحتوى الحمأه على المواد الأتية :

- مركبات عضوية وهي الكربون العضوى والنيتروجين العضوى ومركباتهما وتشكل حوالى ٥٠ ٪ من إجمالي الحمأه.

- مركبات غير عضوية وهي تشمل:

١- مواد نيتروجينية وتعتبر أهم المواد فى الحمأه لأنها من المواد الفعالة فى السماد وعند تعرض الحمأه للهواء الجوى تزداد نسبة النترات وتنخفض نسبة النشادر وتتراوح نسبة النيتروجين فى الحمأه ما بين٦ ,١ -٣,٢٪.

٢- الفوسفات وهي من المواد الفعالة التى توجد فى السماد وتتراوح نسبة الفوسفات فى الحمأه ما بين١-٨ ,٢ ٪.

٣- الأملاح وتشمل أملاح الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم والكبريت والحديد وهذه الأملاح تؤثر على القلوية فى الحمأه وعلى عملية التخمر وتظل نسبة المركبات الغير عضوية فى الحمأه حوالى ٤٠٪.

- كائنات حية دقيقة ناتجة من فضلات الإنسان والحيوان وتنقسم إلى قسمين ، قسم مفيد لعملية التخمر ، والأخر ضار يسبب العديد من الأمراض .

- زيوت ودهون تتراوح نسبتها ما بين ٥ -١٠ ٪.

كميات الحمأه Sludge amounts

لا توجد بيانات رسمية عن كمية الحمأه المتولدة من معالجة مياه الصرف الصحى على مستوى الجمهورية. ويمكن حساب حجم الحمأه المتولدة من مياه الصرف المعالج بأسلوب تقديرى على أساس أنها توازى حوالى ١٠ فى الألف (١٪) من المخلفات السائلة.

طرق معالجة الحمأه Methods of sewage treatment

سوف نشير باختصار إلى أساليب معالجة الحمأه والتى تتلاءم مع ظروفنا المصرية وتنقسم إلى قسمين :

أولاً: المعالجة الهوائية Aerobic treatment وتشمل :

١- طريقة الكمر المزدوج للحمأه مع مخلفات عضوية أخرى.

٢- طريقة استخدام بعض المواد الكيميائية مثل الجير الحى أو تراب الأسمنت.

٣- طريقة استخدام بعض الطحالب البحرية.

ثانياً: المعالجة اللاهوائية Anaerobic treatment وتشمل :

١- إنتاج الغاز الحيوى والسماد العضوى من مخلفات الحمأه منفردة.

٢- إنتاج الغاز الحيوى والسماد العضوى من مخلفات الحمأه بعد إضافة مواد عضوية بنسب معينة.

٣- إنتاج الغاز الحيوى والسماد العضوى تحت نظام الحرارة المرتفعة ٥٥م.

٤- إنتاج الغاز الحيوى والسماد العضوى باستخدام تكنولوجيا فصل مرحلة تكوين الأحماض العضوية ومرحلة إنتاج الميثان.

وكل هذه الطرق ذات كفاءة عالية فى القضاء على البكتريا الممرضة والطفيليات المختلفة والتى يتركز وجودها بكثافة عالية فى حمأة المجارى والسماد العضوى الناتج يشبه السماد البلدى المتحلل فى مظهره مع خلوه من بذور الحشائش ومسببات الأمراض البكتيرية والفيروسية أو بويضات الطفيليات مع ارتفاع قيمته السمادية.

ويتم اختيار وسيلة المعالجة بناء على المواد والشوائب التى تحتويها الحمأه وعادة ما تتم معالجة الحمأه على مراحل ثلاث هى :

١- أحواض تركيز الحمأه: ويكون الغرض من هذه المرحلة خفض نسبة الماء الموجودة بالحمأه ، حيث أنها تحتوى على حوالي ٩٥٪ من إجمالي حجمها مياه ، ونسبة المواد الصلبة حوالى٥٪.

٢- مرحلة التخمر: وذلك باستخدام البكتريا اللاهوائية فى خزانات التخمر وتصل نسبة المواد الصلبة نحو١٠٪.

٣- مرحلة التجفيف: وذلك باستخدام أحواض التجفيف وتصل المواد الصلبة بعد تجفيف الحمأه إلى ٨٠ ٪ من حجمها والمياه إلى٢٠ ٪.

والجدير بالذكر أن الطريقة المتبعة فى مصر هى أحواض التجفيف نظراً لرخصها وملائمتها للعوامل الجوية مثل درجة الحرارة وقلة الأمطار، أما أحواض الترسيب فيتم إنشاء حوضين على الأقل فى المحطة الواحدة وهى الأحواض التى تترسب بها الحمأه ويتم كسح الحمأه فى حوض الترسيب النهائى بصورة مستمرة لأنه إذا بقيت لفترة طويلة فيؤدى ذلك إلى تعفنها مما يسبب فشل عملية التنقية.

فوائد الحمأه Benefits of sludge

أ . يمكن استخدام الحمأه المجففة كسماد عضوى للأراضى الزراعية.

ب . يمكن حرقها فى أفران خاصة واستخدام الحرارة الناتجة من الحريق فى تسخين المياه أو للتدفئة.

جـ . تعتبر من المشروعات الاستثمارية التى تحقق عائداً مجزياً يمكن للقطاع الخاص أن يشارك فى هذا المجال.

تجهيز الحمأه للاستخدام الزراعى

بعد تجفيف الحمأه تخزن على شكل أكوام بارتفاع حوالى متر، وتغطى بطبقة من الرمال بسمك ٣ سم لمنع تكاثر الذباب على سطحها وتترك هذه الأكوام لمدة تتراوح ما بين ٢٠ – ٤٠ يوماً لتنشيط التخمر الذى يرفع درجة حرارتها إلى ٧٠ °م نتيجة التفاعلات الحيوية ، وتساعد الحرارة المرتفعة فى قتل الطفيليات ويرقات الحشرات خاصة الذباب ، وتساعد على الحد من بقاء بويضات الديدان الطفيلية حية ثم يضاف إليها الإضافات المختلفة مثل الجير الحى بنسبة٥ –١٠ ٪، تراب الأسمنت بنسبة ٢.٥ – ٥ ٪.

مزايا استخدام الحمأه فى الزراعة

استخدام الحمأه فى الأراضى الزراعية يحقق فوائد عديدة منها:

ا . زيادة الإنتاج وتحسين خواص التربة وخفض كثافتها.

ب . زيادة معدل احتفاظ التربة بمياه الرى.

ج . تحتوي الحمأه على مواد مغذية للنبات مثل النيتروجين والفوسفات وكذلك غنية بالمواد العضوية.

د . يوفر استخدام الحمأه فى تسميد الأراضى الزراعية مبالغ طائلة بالمقارنة بالأسمدة الكيميائية.

ويوضح الجدول التالى الحدود المثلى والمسموح بها للعناصر النادرة والثقيلة فى الأراضي الزراعية.

مخاطر استخدام الحمأه فى التسميد

Risks o using f sludge in fertilization

أ. يعتبر محتوى الحمأه من الأزوت أحد المخاطر الرئيسة لاستخدامها فى الزراعة حيث تؤدى إلى إضافة محتوى عال من الأزوت إلى التربة وزيادة كمية النترات التى تتسرب إلى المياه الجوفية وتلوثها.

ب . تحتوى الحمأه على العناصر الثقيلة والكيماويات العضوية إذا كانت فى الحدود المسموح بها، ولكن إذا زادت التركيزات للعناصر الثقيلة فتؤدى إلى تسمم النباتات والحيوانات.

ج . يلزم التأكد من خلو الحمأه من أى كائنات دقيقة ممرضة وطفيليات قبل استخدامها فى الزراعة، حيث أن هذه الكائنات تؤدى إلى تلوث التربة، وتلوث المياه الجوفية، وتسبب أمراض خطيرة للعمال القائمين بالزراعة مثل الالتهاب الكبدى الوبائي، والدوسنتاريا ، والتيفود والإنكلستوما .

جدول (٤-٢-١): الحدود المثلى والمسموح بها للعناصر الثقيلة في الأراضي الزراعية.

التركيز الكلي للعنصر بالمليجرام / كيلو جرام تربة			
العنصر	الحد الأدني	الحد الأعلى	الحد الأمثل
الحديد	١٠,٠٠٠	٢٠٠,٠٠٠	٤٠,٠٠٠
المنجنيز	١٠٠	٣٠٠٠	٨٠٠
الزنك	١٠	٣٠٠	٨٠
النحاس	٢	١٠٠	٢٠
الكوبلت	١	٤٠	١٥
النيكل	٥	٥٠٠	٥٠
الكادميوم	٠,٠٠١	٠,٧	٠,١
الرصاص	٢	٢٠٠	٣٠
البورون	٢	١٠٠	١٠
الباريوم	١٠٠	٤٠٠٠	١٠٠٠
الفضة	١	١	١
الزرنيخ	١	٤٠	٦
البريليوم	١	٤٠	٣
الكروم	٥	١٠٠٠	١٠٠
الليثيوم	٥	٣٠٠	٥٠
السيلنيوم	٣	٢٠	٨

الفانديوم	٢٠	٥٠٠	١٠٠

التخلص الأمن من الحمأه السيئة Elevating from bad sludge

يلزم التخلص من الحمأه المخالفة التى لا تتواءم مع المعدلات القياسية التى تم تحديدها للاستخدام بأسلوب مناسب لا يضر بصحة الإنسان أو بالبيئة المحيطة ، سواء تربة أو مصادر مياه أو هواء وتنحصر طرق التخلص من الحمأه فى طريقتان هما:

أ- دفن الحمأه Sludge burring

وتستخدم الحمأه بعد التجفيف، حيث يتم وضعها بعد تجفيفها فى حفر كبيرة تكون قاعدتها طبقة صماء من طبقات الأرض، ويتم تغطية كل دفعة من الحمأه بطبقة من التراب بارتفاع ٤٠ سم على الأقل، وذلك لمنع تصاعد الروائح منها ولمنع توالد الذباب. وفى حالة عدم وجود طبقة صماء تحت سطح الأرض، يتم حفر خنادق مستطيلة متوازية بعمق ١.٥ متر، على أن تكون أرضية الخنادق أعلى من سطح المياه الجوفية. وفى حالة قرب المياه الجوفية من سطح الأرض، يلزم تبطين أرضية وجوانب الخنادق بمادة عازلة وتلقى الحمأه فى الخنادق، ثم تغطى بطبقة سميكة من التراب، ويراعى ألا يعاد حفر الخنادق فى ذات المنطقة إلا بعد مرور سنتين على الأقل.

ب- حرق الحمأه Sludge burning

وتستخدم للحمأه بعد التجفيف، حيث يتم حرق الحمأه فى أفران خاصة، وتستعمل الحرارة الناتجة من الحريق لتسخين المياه فى الغلايات أو للتدفئة أو لتجفيف الحمأه قبل حرقها وتصل درجة حرارة الحريق إلى أكثر من ١٠٠٠ ° م.

الكشف عن كفاءة معالجة مياه المجاري

Detection on the efficiency of sewage treatment

يمكن الحكم على كفاءة عملية معالجة مياه المجارى بالكشف عن بكتريا *Listeria monocytogenes* حيث أن هذه البكتريا توجد بكثرة في مياه المجاري ومصاحبة لبكتريا القولون بأعداد كبيرة وهي تعيش فى مياه المجاري لمدة طويلة تصل لعدة أسابيع ، كما أنها تقاوم الكلور بدرجة كبيرة ، لذلك فإن وجودها بمياه المجاري بجانب الاختبارات الميكروبيولوجية الأخرى يؤخذ كدليل على عدم كفاءة عملية المعالجة أي على وجود ميكروبات مرضية .

وهذه البكتريا عصوية قصيرة مفردة أو فى سلاسل، موجبة لصبغة جرام، غير متجرثمة ، متحركة، اختيارية للهواء ، وهى ممرضة للإنسان والحيوان إذ تسبب للإنسان مرضا يسمى Listeriosis (التهاب بالمخ) وتسبب للحيوان الإجهاض والتهاب الضرع والالتهاب السحائي وبالإضافة إلى ذلك فإن وجود بكتريا الـ *Salmonella* يدل أيضاً علي عدم كفاءة عملية المعالجة .

إعادة استخدام مياه الصرف الصحى Reusing of sewage water

تتعدد مجالات إعادة استخدام المياه وفقاً لطبيعتها ودرجة الجودة التى يتطلبها الاستخدام الجديد والجدوى الاقتصادية لتنقيتها إلى الدرجة اللازمة التى تسمح بإعادة استخدامها حيث يمثل هذا الاستخدام حلاً لمشكلة التخلص من المخلفات السائلة، وإعادة استخدام مياه الصرف الصحى بعد المعالجة يتم فى المجالات التالية:

١- إعادة الاستخدام فى استصلاح الأراضى الجديدة واستزراعها.

٢- الاستخدام فى المزارع السمكية.

٣- الاستخدام فى أنشطة أخرى مثل زراعة أشجار خشبية.

٤- ري المسطحات الخضراء.

٥- تبريد المعدات بالمصانع.

٦- ري نباتات الزينة.

ومما لا شك فيه أنه بإعادة استخدام المخلفات السائلة المعالجة مرة أخرى والتى تمثل مصدراً مائياً لا يجب إهداره ، يمكن سد بعض العجز فى ميزان الاحتياجات المائية ولذلك تحتم فى المرحلة الحالية والمستقبلية Prospective التوسع فى تطبيق إعادة استخدام المياه . ولكن هناك قيود وضوابط تحكم كل من هذه الاستخدامات وقد تم وضع معايير لإعادة استخدام مياه الصرف الصحى الخام والمياه الناتجة من معالجة الصرف الصحى وكذلك الحمأه.

أهمية إعادة استخدام المياه والتى تتمثل فى الأتى :

أ . توفير كميات من المياه كافية للعديد من الاستخدامات المختلفة.

ب . تخفيف العبء الملقى على الشبكات العمومية.

جـ . تخفيض التلوث الحرارى Thermal pollution المحتمل والذى ينتج من استخدام مياه التبريد مرة أخرى فى الصناعة وعدم صرفها إلى المجارى المائية.

د . إمكانية استعادة الفاقد من الخامات المستخدمة فى الصناعة نتيجة لمعالجة المخلفات الصناعية Industrial wastes السائلة ولا سيما فى حالة الخامات المستوردة والمرتفعة التكلفة.

وتعتبر الزراعة المجال الأكبر والمستفيد من إعادة استخدام المياه سواء الواردة من مصادر زراعية مثل مياه الصرف الزراعى Drainage water أو من مصادر الصرف الصحى Sewage water والصناعى Industrial بعد معالجتها إلى المعايير المناسبة باستخدام تكنولوجيا رخيصة مناسبة غير معقدة بعد التأكد من خلوها من المواد السامة والضارة مع أخذ العامل الاقتصادي فى الاعتبار.

وتتلخص المعايير التى تستخدم فى الحكم على صلاحية المياه المزمع إعادة استخدامها فى الرى فيما يلى :

– نسبة الأملاح الكلية الذائبة وهو ما يعبر عنه بدرجة الملوحة بحيث لا يتعدى تركيزها الحدود المسموح بها.

– درجة نفاذية المياه فى التربة.

– تركيز العناصر السامة **Toxic elements** أو الضارة فى المياه ووجود مسببات الأمراض الميكروبية مما يؤدى إلى انخفاض المحصول عن معدله الطبيعى.

– العوامل الأخرى والمتمثلة فى تركيز العناصر الكبرى المغذية للنبات مثل الأزوت حيث أن المحاصيل الحساسة لهذا العنصر تتأثر إذا ما زاد تركيزه.

وبصفة عامة فانه يجب فى حالة إعادة استخدام المياه فى أغراض الزراعة مراعاة النقاط الآتية:

١–توفير شبكة صرف زراعى جيدة متكاملة.

٢–الاهتمام بمتابعة مستوى الملوحة **Salinity** وغسيل الأراضى للمحافظة على عدم تجاوز مستوى الملوحة التى يتحملها المحصول.

٣–اختيار المحاصيل التى تتحمل الملوحة بدرجة عالية.

٤–الاهتمام بالعمليات الزراعية الأخرى مثل تسوية الأرض ضماناً لتوزيع المياه وضبط معدلات التسميد **Fertilization rates** واختيار الأسلوب الأمثل للرى.

٥–الاهتمام بمعالجة المياه وتخليصها من الأيونات السامة قبل الاستخدام.

٦–خلط المياه المزمع إعادة استخدامها وبذلك يتحقق هدفين الأول هو تحسين نوعيتها، والثانى توفير وإتاحة كميات أكبر من المياه للاستخدام وتغطية الاحتياجات المائية **Water requirements**.

ولاشك إنه يمكن استخدام مياه الصرف الصحى فى الرى الزراعى بعد معالجتها معالجة أولية فى رى المحاصيل التى لا تستهلك استهلاكاً مباشراً بواسطة الإنسان، بينما يرى أنه من الضرورى واللازم معالجتها معالجة ثانوية إذا ما استخدمت فى رى المحاصيل التى تستهلك مباشرة.

مجالات الاستفادة من مياه الصرف الصحى المعالج

أ . زراعة بعض المحاصيل مثل نباتات عباد الشمس وأشجار التوت لتغذية دود القز وإنتاج الحرير الطبيعى.

ب . تستخدم هذه المياه فى إنشاء زراعة ملاعب الجولف والحدائق الخاصة والعامة.

جـ . تستخدم فى أبراج التبريد بالمصانع والصناعات التى تحتاج إلى كميات كبيرة من المياه مثل مصانع الأسمنت ، مواد البناء وصناعة الورق والكرتون.

د. فى محطات الغسيل الخاصة بوحدات القطارات والسيارات.

هـ. خلط المياه المعالجة بالمياه العذبة فى بعض المناطق للاستفادة بها فى الأعمال الزراعية فى المناطق الصحراوية.

و–ري الغابات الشجرية وهى نقلة حضارية كبيرة فى مجال مشروعات الصرف الصحى حيث تسهم فى التخلص الآمن والفعال من مخلفات الصرف ويتم زراعتها بالمناطق الصحراوية للاستفادة فى إنتاج الأثاث.

مزايا استخدام مياه الصرف الصحى المعالج فى الزراعة

Advantages of using treated sewage water in agriculture

يحقق استخدام مياه الصرف الصحى المعالجة فى الزراعة فوائد كثيرة والتى تختلف باختلاف ظروف المكان ونوعية المحاصيل والمياه وطرق الرى وتتعدد المزايا منها:

أ – ترشيد المياه بما تمثله من مورد جديد من موارد المياه للرى.

ب– استمرارية المصدر فى بعض المناطق النائية والتى يتكلف وصول مياه الرى بها تكلفة كبيرة ويكون أسلوب استخدام مياه الصرف المعالج هو الأسلوب الأنسب وكذلك فى المناطق المعرضة للجفاف.

جـ– القيمة الغذائية للنبات حيث يحتوى سائل الصرف على عناصر غذائية كثيرة للنبات لما يحتويه من الأزوت والفوسفور والبوتاسيوم والنحاس والحديد والزنك.

د– تحسين خواص التربة حيث يؤدى استخدام ماء الصرف الصحى المعالج إلى خفض قيمة ال pH مما ييسر امتصاص العناصر الغذائية فى التربة ، وزيادة السعة المائية للتربة وكذلك زيادة السعة التبادلية للكاتيونات.

هـ– زيادة إنتاجية المحاصيل حيث أثبتت الأبحاث أن استخدام مياه الصرف الصحى يزيد من إنتاجية المحاصيل الزراعية ، فمثلاً ارتفع إنتاج الذرة ثلاثة أضعاف بعد أربع سنوات من استخدام مياه الصرف الصحى بالمقارنة باستخدام مياه النيل فى الرى ، وكان السبب الرئيسى لزيادة الإنتاج ليس فقط توفير العناصر المغذية الضرورية للنبات ، بل أيضا نقص الملوحة ، وخفض نسبة إدمصاص الصوديوم وحماية البيئة حيث أن الأسلوب التقليدىTraditional للتصرف فى مياه الصرف الصحى هو المعالجة ثم إلقاؤها فى المصارف ، بخلاف بعض التجاوزات بإلقاء سائل الصرف الخام مباشرة فى المصارف مما يؤدى إلى أثار خطيرة على البيئة ، أما فى حالة معالجة مياه الصرف الصحى واستخدامها فى الرىIrrigation فإننا بذلك نضمن عدم تلوث المصارف أو زيادة منسوب المياه الجوفية ، وعموماً فإن حماية البيئة من هذه المخلفات السائلة لا يقل أهمية عن النتائج الاقتصادية المترتبة على إعادة استخدامها بأمانSafety.

ز- قلة تكاليف الإنتاج حيث أن استخدامها يقلل من استخدام الأسمدة الكيماوية، وبالتالى يوفر مبالغ طائلة.

ح . حفظ المياه حيث يمكن حفظ المياه المعالجة عن طريق حقن التربة فى بعض المناطق النائية وسحبها فى وقت لاحق لاستغلالها فى أعمال الزراعة.

مياه الصرف الصحي والزراعة

إن استخدام مياه الصرف الصحي في الري يزيد من التوسع الأفقي الذى يعتبر أحد الوسائل الحتمية التي تفرضها الأوضاع الحالية لمواجهة التحديات التي تواجه الأجيال القادمة ، ويهدف التوسع الأفقي إلي زيادة استزراع الأراضى لزيادة الإنتاج الزراعى لمختلف أنواع المحاصيل وذلك لسد الفجوة بين الإنتاج والاستهلاك ، ومن واقع السياسة المائية للدول التي تنص على أنه يمكن استخدام مياه الصرف الصحى المعالج لتوفير الاحتياجات المائية لبعض أماكن الاستصلاح الجديدة حيث يمكن تطبيق ذلك فى كل المناطق التى لا يتوفر بها مياه الري وذلك بعد إجراء المعالجات المطلوبة ، ومن النتائج الإيجابية التي تترتب علي إعادة استخدام مياه الصرف الصحى ما يلى :

١- زيادة محتوى الأراضى Soil content من العناصر الغذائية اللازمة لنمو النبات سواء عناصر كبرى أو صغرى.

٢- تحسين الخواص الطبيعية والبيولوجية والكيماوية للأراضي حديثة الاستصلاح عن طريق رفع محتواها من المادة العضوية.

مما سبق تتضح خطورة Seriousness استخدام مياه الصرف الصحى دون معالجة وفي نفس الوقت يعتبر عدم إعادة استخدامها إهدار للموارد المائية ، لذلك أصبح لزاما علي كل أجهزة الدولة المعنية الاهتمام بمعالجة مياه الصرف الصحى وإعادة استخدامها في رى المحاصيل ، ومن أهم المحاصيل التي يمكن ريها بمثل هذه المياه دون أدنى خطورة تذكر علي الصحة العامة هي الأشجار الخشبية Woody tree(الغابات) ، محاصيل الألياف Fiber crops ، نباتات الزينة Ornamental plants، الملاعب الخضراء Green playgrounds والحدائق والأحزمة الخضراء Green belts حول المدن.

الباب الخامس– الفصل الأول

إنتاج السماد العضوي الصناعي Compost

يطلق اصطلاح السماد العضوي الصناعي علي السماد الناتج من تحلل بقايا ومخلفات المحاصيل المختلفة بواسطة الكائنات الحية الدقيقة خلال عملية الكمر الهوائي لهذه المخلفات.

الشروط الواجب مراعاتها عند إنتاج الكمبوست

١- توفر مساحة مناسبة من الأرض لتنفيذ كومات السماد تتناسب وكمية المخلفات المراد تحويلها إلى سماد عضوي وأنسبها ٢ – ٣ م عرض في ١.٧٥ م ارتفاع وطول حسب حجم المخلفات لكل طن مخلفات زراعية.

٢- توفر السماد البلدي أو الروث لزيادة قدرة المخلفات النباتية على الاحتفاظ بالماء والعناصر السمادية وحمايتها من الفقد بالترشيح.

٣- زيادة مساحة سطح المواد المراد تحويلها إلى كمبوست وذلك بالطحن Milling أو التقطيع Segmentation بحيث لا يتجاوز طولها ١٥ سم وقطرها أقل ما يمكن ويفضل أن تكون ناعمة.

٤-توفر مصادر مياه لترطيب الكومات بصفة مستمرة ويمكن استخدام مياه الصرف بشرط أن تكون خالية من الملوثات الكيميائية والعناصر الثقيلة Heavy metals.

٥- ضرورة تقليب كومات السماد في مواعيدها وبعدد المرات المطلوبة لتنشيط الميكروبات ومجانسة السماد وتقليل التالف.

٦- أن يكون رقم الحموضة بالكومة متعادل Neutral ما بين ٦.٥ – ٨ ليلائم نشاط الميكروبات التي تقوم بتحليل المخلفات العضوية ، وقد يضاف للكومة كربونات الكالسيوم (الجير) لمعادلة الحموضة بمعدل ١ –٢ ٪.

٧-المنشط النيتروجينى Nitrogen analeptic حيث يضاف عنصر النيتروجين لضبط نسبة الكربون : النيتروجين وهو يتراوح بين ٢٥ – ٣٥ كجم / طن من المخلف وذلك حسب طبيعة المخلفات وأكثرها ملائمة هو سلفات النشادر ويفضل استخدام إما سماد القمامة أو سماد البيوجاز كمنشط.

٨- المنشط الفوسفاتي Phosphatic analeptic حيث يضاف عنصر الفوسفور بمعدل ٥ – ٧ كجم سوبر فوسفات أو صخر فوسفاتي / طن من المخلفات.

٩- المنشط البيولوجي Biological analeptic يجب أن يحتوي على سلالات بكتيرية وفطرية فعالة مثل البكتريا المثبتة للأزوت الجوي والمذيبة للفوسفات وفطريات تحليل السليولوز Cellulose decompositionوترش على الكومات بمعدل ١٠ لتر/ طن مخلفات خلال التقليب ومع مياه الترطيب بعد المراحل الأولى من التحلل الهوائي عندما تبدأ درجة الحرارة في الانخفاض لأقل من ٤٠°م.

القيمة السمادية للسماد العضوي Fertilizing value of organic manure

تتواجد العناصر السمادية في السماد العضوي غالباً في صورة غير قابلة للذوبان، حيث يتعرض بعد إضافته للتربة إلى النشاط الميكروبي مسبباً تحولها إلى صورة ذائبة صالحة للامتصاص النباتي ، وتشير الدراسات التي تناولت معدنة العناصر السمادية الموجودة بالسماد العضوي أن ٤٠ ٪ من عناصر النيتروجين والفوسفور والبوتاسيوم يتم تيسيرها خلال السنة الأولى و٣٠ ٪ في السنة الثانية و٣٠ ٪ في السنة الثالثة. ويعتبر إضافة السماد العضوي عملية أساسية لمعظم المحاصيل ليس فقط لمحتواه من العناصر السمادية بل لأثره في رفع المحتوى العضوي للأراضي، وما يترتب عليه من زيادة النشاط الحيوي للأحياء الدقيقة بالتربة مثل التي تقوم بتثبيت نيتروجين الهواء الجوي وإفراز منظمات ومنشطات النمو أو التى تيسر الفوسفات مما ينعكس بالتأثير المباشر والإيجابي على المحاصيل المنزرعة.

ولضمان جودة السماد العضوى الصناعى فإنه يتم تقدير القياسات الأتية أثناء عملية الكمر Composting process:

- درجة الحرارة يجب أن تتراوح خلال عملية الكمر ما بين ٥٥ – ٧٥ °م.
- الأكسجين والذى يجب ألا يقل عن ٥ – ٨ ٪.
- ثاني أكسيد الكربون والذى يجب ألا يزيد عن ١٥ ٪.
- الرطوبة والتى يجب أن تتراوح ما بين ٥٠ – ٦٠ ٪.
- عدم وجود النيتريت نهائياً وتحول الأمونيا إلى نترات.
- عدم وجود كبريتيد الهيدروجين حيث أن وجوده يدل على وجود صور مختزله من العناصر الغذائية وهي ضارة للنبات.
- المادة العضوية والتى يجب ألا تقل عن ٣٠ ٪.
- الدبال والذى يجب أن يكون في حدود ٢٥–٣٠ ٪ من المادة العضوية.

وعند إنتاج الكمبوست يفضل وجود أله للتقليب حيث أنها تقوم بالأتي :

- التقليب الجيد. – التقطيع والفرم.
- التهوية. – إضافة الماء لتعويض الفاقد من الماء.

وأهم ما يجب مراعاته عند إنتاج الكمبوست ما يلى:

١– تنوع المواد الداخلة في عملية الكمر الهوائي بحيث تحتوي على مخلفات محاصيل حقلية جافة يتم فرمها أو تقطيعها ومخلفات خضراء وبقوليه ومخلفات إنتاج حيواني وداجني.

٢- ضبط محتوى الرطوبة للمواد المكمورة إلى٥٠ - ٦٠ ٪ والمحافظة على التهوية خلال فترة الكمر الهوائي.

٣- التحكم في حجم المكمورة بحيث لا يزيد العرض عن ٣ أمتار والارتفاع عن ١.٥ إلى ٢ متر.

٤- إجراء التقليب مرة كل أسبوع بالوسيلة الملائمة للكومة سواء بالعمالة اليدوية أو باللودر أو بألة التقليب الخاصة بإنتاج السماد العضوي.

٥-عند بناء المكمورات يجب أن تكون الطبقة الأولى من المخلفات الزراعية مفرومة وجاف ثم تتعاقب الطبقات بالتبادل ما بين مخلفات رطبة وجافة.

٦- يفضل أن تكون ضمن المواد الداخلة في عملية الكمر مخلفات نباتية خضراء ويفضل أن تكون بقوليه حيث وجد أنها تحسن من صفات المنتج بدرجة كبيرة وكذلك تهيئ بيئة مثلى للكائنات الحية الدقيقة لكي تبدأ في النشاط.

٧- هذا ويجب إضافة تربة زراعية أو معدن طين البنتونيت أثناء عملية الكمر، حيث وجد أن الكائنات الحية الدقيقة تحتاج إلى وجود معدن الطين أثناء نشاطها في التحلل للمساعدة في بناء معقد الدبال والطين حيث تتكون الروابط بين معدن الطين والمكون العضوي.

٨- كذلك يجب إضافة ٥ ٪ من الكمبوست الناضج (منشط بكتيري) حيث أنه يحتوي على أهم الكائنات الحية الدقيقة الضرورية لعملية الكمر إلى جانب المساعدة في تحسين الرطوبة والتهوية داخل خط الإنتاج الجديد عند بداية عملية الكمر.

٩- لتوفير الاحتياجات الغذائية للنبات من الفوسفور والبوتاسيوم والكالسيوم والماغنسيوم فإنه يجب استخدام المصادر الطبيعية لهذه العناصر لذلك يضاف صخر الفوسفات كمصدر للفوسفور وصخر الفلسبار المطحون كمصدر للبوتاسيوم والدولوميت المطحون كمصدر للكالسيوم والماغنسيوم هذا إلى جانب احتواء هذه الصخور الطبيعية على بعض العناصر الأخرى الضرورية للنبات.

المخلفات والمواد التى تستخدم فى إنتاج الكمبوست

يعتمد إنتاج الكمبوست بصفة أساسية على تخمير المخلفات الصلبة النباتية أو الحيوانية بغرض الاستفادة منها فى الزراعة، تشمل المخلفات النباتية القش والتبن وعروش الخضروات والأحطاب والحشائش وورد النيل ونواتج تقليم الأشجار وأوراقها المتساقطة، أما المخلفات الحيوانية فتشمل مخلفات الماشية والطيور الداجنة، وقد اتسع مفهوم إنتاج الكمبوست فى السنوات الأخيرة حيث

يستخدم حالياً فى إنتاجه إلي جانب المخلفات النباتية والحيوانية التقليدية قمامة المدن Garbage والحمأة ومن أهم الخامات المطلوبة لإنتاج الكمبوست مايلى:

١- مخلفات محاصيل حقلية.

٢- مخلفات الإنتاج الحيواني بالفرشة.

٣- مخلفات دواجن.

٤- مخلفات بقوليه وخضراء.

٥- صخر الفوسفات كمصدر للفوسفور.

٦- صخر الفلسبار كمصدر للبوتاسيوم.

٧- كبريت زراعي.

٨- صخر الدولوميت كمصدر للكالسيوم والماغنسيوم.

٩- تربة زراعية.

١٠- سماد عضوي ناضج كمنشط بكتيري.

خطوات إنتاج الكمبوست Steps of compost production

١- يعد مكان الكومة على ارتفاع من سطح الأرض بحوالى ١٠-١٥ سم ويدك جيدا ويرش بالماء لدك الأرض.

٢- تقطع المخلفات النباتية إلى أجزاء صغيرة لزيادة مساحة سطحها وزيادة فاعلية الميكروبات على تحليل المركبات العضوية.

٣- تبنى الكومة فى طبقات متتالية كما يلي:

الطبقة الأولى : تفرش ١/١٠ كمية المخلفات النباتية المطحونة ويفرش فوقها ١/١٠ كمية السماد البلدى أو الروث ثم تنثر١/١٠ المنشطات الأزوتية والفوسفاتية والجير، ثم يضاف ١/١٠كمية الماء اللازمة ، تدك هذه الطبقة بالجرار أو بالعمال.

الطبقة الثانية إلى العاشرة: يكرر ما تم بالطبقة الأولى وتغطى الطبقة الأخيرة بطبقة سمكها ٥ سم من السماد البلدى أو التربة.

٤- في حالة الكميات الكبيرة من المخلفات في الحقل تجهز أكثر من كومة على رأس كل عدة أفدنه حتى يسهل النقل للمخلفات والسماد بعد النضج.

٥- يفضل إضافة روث الماشية إلى هذه الكومات فيزيد من سرعة التحلل والنضج ويزيد من القيمة السمادية لل Compost الناتج.

٦- يفضل إثراء كومات السماد العضوى بإضافة العناصر السمادية الميسرة وبالكميات التى تساعد على استمرارية النشاط الميكروبى Microbial activity بالكومة مثل الأسمدة النيتروجينية أو الفوسفاتية أو مخلفات المجازر أو الدم المجفف أو مسحوق العظام.

٧- تترك الكومة لمدة ٦ أسابيع وترش بالماء كلما لزم الأمر للحفاظ على نسبة رطوبة ٦٠٪ بحيث إذا أخذت قبضة من الكومة وضغطت باليد فرطبتها فقط أى لا يكون السماد جاف أو مشبعا بالماء.

٨- يتم التقليب بعد الأسبوع السادس بحيث ينتقل محيطها إلى وسطها وأعلاها إلى أسفلها مع رش المنشط البيولوجى مع ماء الترطيب.

٩- يكرر التقليب بعد ٤ أسابيع ثم بعد أسبوعين.

١٠- قد تمتد فترة التخمير للكومة حوالى ٢٠ أسبوع للمخلفات المحتوية على نسبة عالية من اللجنين مثل حطب القطن ومصاصة القصب.

١١- يمكن تغطية الكومة بغطاء قماش أو بلاستيك لحمايتها من التقلبات الجوية بشرط السماح بالتهوية وعدم زيادة الرطوبة حتى لا تتحول الكومة إلى ظروف لاهوائية.

١٢-عند تمام النضج Full maturity ينخفض حجم الكومة ويتحول لونها إلى اللون الرمادي الداكن (لتكون الدبال) وتكون لها رائحتها المميزة المقبولة.

طريقة أخرى لبناء الكومة السمادية

تختلف طريقة بناء الكومة من مكان لأخر على حسب المخلفات والظروف المتوفرة وعموماً يمكن بناء الكومة تحت الظروف المصرية كما يلى:

١- تعمل كومات (مكمورات) الكمبوست Compost bile's بعرض ٢.٥ × ٣ م وبالطول الملائم لكمية المخلفات المراد تخميرها) في موقع ملائم ظليل ويحتاج الطن الواحد من المخلفات إلى مساحة ٦ م^{٢} (٢ ×٣م) وارتفاع ١ – ٥ ,١ م ويجب أن يكون المكان المختار قرب مورد للمياه لتسهيل عمليات رش الكومات وفي مكان مجاور لحظائر الماشية على أن تكون أرض المكان جافة لا يحدث بها نشع ويمكن دك أرض الموقع جيداً على أن يكون بها ميل بسيط مع حفر قناة صغيرة حولها بعمق وعرض حوالي ٣٠ سم لتجميع السوائل الراشحة من الكومة حيث يمكن إعادة استخدامها في ترطيب الكومة Bile moistening.

٢- تفرش طبقة بارتفاع حوالي ٢٠سم من المخلفات العضوية المفرومة والتي تم تقطيعها وتكسيرها إلى أجزاء صغيرة ثم ترش بالماء، يساعد فرم أو تقطيع المخلفات في تسهيل عمليات الترطيب والتقليب ومن ثم سرعة التحليل الميكروبي.

٣- يوضع فوقها طبقة بارتفاع حوالي ١٠سم من مخلفات حيوانية كمخلفات الماشية والأغنام أو الطيور الداجنة أو الدم المجفف أو حمأة المجاري، وإذا لم يتوفر مثل هذه المخلفات ينثر جزء من مخلوط كيماوي منشط سبق تحضيره كما هو موضح بالجدول التالى ، ويوضع فوق المخلوط الكيماوى طبقة من تربة خصبة أو كمبوست ناضج ثم يرطب بالرش برذاذ من الماء مع مراعاة التوزيع بانتظام وتجانس.

٤- تكرر الطبقات السابقة بالتبادل حتى حوالي عشر طبقات ليصل الارتفاع ١.٥ - ٢ م مع مراعاة ألا تكون الطبقة الخارجية للمكمورة من مخلفات الحيوانات أو الدواجن أو الحمأة لتجنب توالد وتكاثر الذباب.

٥- يداوم على رش المكمورة بالماء لتلاشي جفافها وذلك على حسب الظروف الجوية وفي العادة ترش الكومة بمعدل ٢ - ٣ مرات أسبوعياً في الصيف ومرة في الشتاء ويجب عند أخذ أي جزء من الكومة وضغطه بين راحتي اليد أن ترطب اليد دون تساقط الماء (رطوبة ٦٠ ٪).

٦- يراعى تقليب المكمورة كل ٢- ٣ أسابيع (حوالي ٣ مرات خلال فترة نضج الكمبوست) وخلال كل مرة تضبط الرطوبة ويعاد بناء المكمورة لخلط مكوناتها جيداً بحيث تتجانس الكومة في جميع أجزائها لضمان تنشيط عملية التحلل ومثل هذه العمليات من شأنها أن تساعد في تهوية قلب المكمورة ورفع درجة حرارتها إلى (٦٠ - ٧٥ ° م) حيث تساعد الحرارة إلى جانب المضادات الحيوية التي تفرزها الكائنات الحية الدقيقة في القضاء على الميكروبات الممرضة Pathogenic microorganisms والطفيليات والنيماتودا وبذور الحشائش.

٧- تستغرق فترة نضج الكمبوست ٢.٥- ٣.٥ شهر على حسب نوع المخلفات المستخدمة ونسبة المواد الخشبية بها بصفة خاصة، ويعطي الطن الواحد من المخلفات حوالي ٥, ٢ م^{٣} سماد كمبوست وهذه تتفاوت كثيراً على حسب نوع المخلفات المستخدمة.

جدول (٥-١-١): المخلوط الكيماوي المستعمل عند إنتاج الكمبوست.

المخلفات	الكميات المضافة / طن مخلفات
قش الأرز والحشائش الخضراء وورق الشجر وورق الخضراوات	١٥ كجم كبريتات نشادر + ٣ كجم سوبر فوسفات + ١٥ كجم كربونات جير ناعم + ١٠٠ كجم تربة زراعية خصبة
تبن البرسيم والحلبة والفول والقمح والشعير	٢٠ كجم كبريتات نشادر +٤ كجم سوبر فوسفات + ٢٠ كجم كربونات جير ناعم + ١٠٠ كجم تربة زراعية خصبة
عروش الفاصوليا والبطيخ والبطاطا والقلقاس وقش القصب وعرش اللوبيا والفول السوداني والطماطم	٢٥ كجم كبريتات نشادر + ٥ كجم سوبر فوسفات + ٢٥ كجم كربونات جير ناعم + ١٠٠ كجم تربة زراعية خصبة
حطب القطن وسيقان الموز	٣٠ كجم كبريتات نشادر + ٦ كجم سوبر فوسفات + ٣٠ كجم كربونات جير ناعم

	+ ١٠٠ كجم تربة زراعية خصبة
حطب القطن وبقايا تقليم الأشجار ومصاصة القصب وساس الكتان	٣٥ كجم كبريتات نشادر +٧ كجم سوبر فوسفات + ٣٥ كجم كربونات جير ناعم + ١٠٠ كجم تربة زراعية خصبة

مظاهر نضج السماد العضوى الصناعى

Semblances (features) of compost maturity

١-حرارة المكمورة تبدأ في الانخفاض إلى٤٠ – ٥٠ °م.

٢-تحول لون المواد المتحللة إلى اللون البني الداكن.

٣-اختفاء رائحة الأمونيا وذلك لتحولها إلى نترات.

٤-يتراوح رقم الحموضة ما بين ٧.٥ –٨.

٥-وصول الرطوبة النسبية إلى حوالى ٥٠–٦٠ ٪.

٦-يكون المنتج ذو قوام إسفنجي ولونه بنى فاتح.

٧-عدم ظهور أية روائح غير مقبولة بالمنتج.

دور الكائنات الحية الدقيقة في إنتاج الكمبوست

Role of microorganisms in compost production

تقوم الكائنات الحية الدقيقة الهوائية من بكتريا وفطريات وأكتينوميسيتات بعملية تحلل للمواد الكربونية العضوية حيث تحلل في البداية المواد سهلة التحلل ثم المواد الصعبة ونتيجة لذلك تنخفض نسبة الكربون إلي النيتروجين بسبب تطاير كمية كبيرة من الكربون في صورة ثاني أكسيد الكربون.

وتجدر الإشارة إلي أن الكائنات الحية الدقيقة تقوم بتمثيل مركبات النيتروجين المعدنية المتاحة وخاصة الصورة النشادرية لبناء أجسامها ثم تبدأ هذه الكائنات بعد ذلك في تحليل مركبات النيتروجين العضوية وتنطلق الأمونيا ، قد يحدث فقد في كمية الأمونيا نتيجة ارتفاع درجة الحرارة لذلك يجب ترطيب الكومة باستمرار لخفض درجة الحرارة ، بزيادة نضج المخلفات وبانخفاض درجة الحرارة تبدأ بكتريا التأزت في أكسدة الأمونيا إلي نترات هذا ويجب المحافظة علي النترات من الفقد سواء بالغسيل أو الاختزال بعدم زيادة رطوبة الكومة، حيث أن زيادة الرطوبة يؤدي إلي حدوث عملية عكس التأزت وتتكون أكاسيد وغاز النيتروجين ، ويمكن إضافة صخر الفوسفات المطحون بنسبة ٢٪ إلي المخلفات عند كمرها حيث يؤدي ذلك إلي تقليل الفقد من عنصر النيتروجين وزيادة نشاط الأحياء الدقيقة في عملية التخمير Fermentation.

مميزات استخدام السماد العضوي الصناعي في التسميد

١-يعمل على رفع محتوي الأرض من المادة العضوية وخصوصا الأراضي الرملية حيث تصل نسبة المادة العضوية في السماد إلي ٣٠-٤٥ ٪ علي حسب نوع المخلفات المستخدمة فى الصناعة.

٢-هذا السماد غني في محتواه من العناصر المغذية الكبري مثل النيتروجين (١.٢- ١.٦ ٪) والفوسفور(٠.٤ – ٠.٨٪) والبوتاسيوم(٠.٥ – ١.٢٪).

٣-هذا السماد خالي من بذور الحشائش Weed seeds والمسببات المرضية Pathogens بسبب ارتفاع درجة حرارة المكمورة والمضادات الحيوية الناتجة بفعل الكائنات الحية الدقيقة.

٤-زيادة محتواه من العناصر المغذية الصغري مثل الحديد والزنك والمنجنيز والنحاس.

٥-يزيد من القدرة التنظيمية Buffering capacity للتربة الزراعية.

٦-يحسن من بناء الأراضي Soil structure الرملية حيث يعمل علي تجميع حبيبات التربة لزيادة محتواه من المواد الغروية وتحسين قوام التربة Soil texture.

٧-يعمل على احتفاظ الأرض بالماء وبالتالي تقل كميات الماء اللازمة للرى.

٨-يؤدي توفر السماد العضوي الصناعي إلي تطبيق نظام الزراعة العضوية أو ما يسمي بالزراعة النظيفة Clean farming والتي لا يستخدم فيها أسمدة كيماوية أو مبيدات. ويمكن تطبيق هذا النوع من الزراعة في الكثير من الزراعات وخصوصا النباتات الطبية والعطرية وكذلك في مجال زراعات الخضر والفاكهة حيث يضاف بمعدل ١٥-٢٠ م٣ / فدان (حوالي ٦-٨ طن / فدان) ، واستخدام هذا النوع من الزراعة يدر عائد اقتصادي Economical return عالي من النقد الأجنبي لأن معظم المستوردين يفضلون المنتج الزراعي الناتج من الزراعة العضوية ، لذلك فقد أصبحنا في اشد الحاجة إلي المعاملات السليمة للمخلفات الزراعية وغير الزراعية وذلك من خلال معالجة وإعادة تدوير هذه المخلفات لإنتاج الأسمدة العضوية بإتباع نظام التخمير الهوائي .

إنتاج الغاز الحيوي (البيوجاز) Biogas production

في ظل التقدم التكنولوجي لاستخدام جميع الموارد الطبيعية للحصول على الطاقة والغذاء للإنسان فإنه لم يعد هناك ما يطلق عليه مخلفات زراعية نظرا لضرورة دخولها في دورة الإنتاج الزراعي وتصنيعها والاستفادة منها لذلك تسمى نواتج ثانوية By-products مثل الأحطاب وقش الأرز وأيضا النواتج الثانوية للإنتاج الحيواني مثل الروث، وقد أدى التقدم الحضاري للإنسان واهتمامه بالمحافظة على البيئة من التلوث وترشيد استخدام الأسمدة الكيماوية والبحث عن مصادر بديلة Alternative sources للطاقة البترولية الناضبة إلى العودة للزراعة العضوية واستغلال المصادر الطبيعية لإنتاج الطاقة والغذاء والعلف لإنتاج منتجات زراعية ذات قدرة تنافسية ability Competitive عالمية , ويتم ذلك بإتباع تكنولوجيا متطورة ونظيفة ورخيصة تحقق طموح المزارعين في استغلال المنتجات الزراعية الثانوية بطريقة اقتصادية وآمنة بيئيا لتحقيق دخل إضافي من وحدة المساحة الزراعية.

ولقد بدأ الاهتمام بإنتاج الغازات بواسطة الميكروبات منذ زمن بعيد يزيد على المائة عام , ثم زاد الاهتمام بهذه التكنولوجيا في بلاد العالم المتطورة والنامية منذ نهاية الحرب العالمية الثانية، ويوجد الأن ألاف الوحدات العاملة لإنتاج هذه الغازات في بلاد عديدة في أوروبا وأسيا وأفريقيا ، وبالنسبة لمصر فقد أنشأ أول مخمر لإنتاج الغازات ميكروبيا عام ١٩٣٩ م في مزرعة الجبل الأصفر باستخدام مخلفات المجارى، ثم توالت الدراسات منذ الخمسينات وأصبح الأن بعض قرى مصر يوجد بها مخمر لإنتاج الغاز الحيوي (البيوجاز).

تعريف غاز البيوجاز

هو ذلك المخلوط الغازي الناتج عن تخمير المركبات العضوية عند خلطها بالماء بمعزل عن الهواء الجوى بفعل أنواع متخصصة من البكتريا منتجة غازات الميثان بنسبة ٥٠-٧٠ ٪ وهو الجزء القابل للاشتعال في المخلوط ، ثاني أكسيد الكربون بنسبة ٢٠-٢٥ ٪ بالإضافة إلى غازات أخرى بنسب قليلة لا تتعدى (١- ٥٪) مثل الهيدروجين ، النيتروجين ، ثاني أكسيد الكبريت وأثار من كبريتيد الهيدروجين وهو الذي يعطى الرائحة المميزة للغاز ، وبجانب هذه الغازات تنتج عدة أحماض عضوية حيث يمثل حمض الخليك أعلى نسبة فيها ومن أهم المخلفات العضوية الممكن تخميرها لإنتاج البيوجاز مايلى:

(١) مخلفات حيوانية Animal wastes مثل روث الماشية ,سماد الدواجن ، سبله الخيول ، مخلفات الطيور المنزلية.

(٢) مخلفات نباتية Plant residues مثل الأحطاب (مثل الذرة والقطن)، قش أرز ، عروش الخضر ، مخلفات الصوب.

(٣) مخلفات أدمية **Human wastes** مثل مخلفات الصرف الصحي ، حمأة المجارى.

(٤) مخلفات منزلية **Domestic wastes** مثل القمامة، مخلفات المطابخ، بقايا الأطعمة، بقايا تجهيز الخضر والفاكهة.

(٥) مخلفات صناعية **Industrial wastes** مثل مخلفات صناعة الألبان، والأغذية، والمشروبات، مخلفات المجازر.

(٦) الحشائش **Weeds** مثل الحشائش البرية، المائية ، ورد النيل.

وتبلغ كمية الناتج من المخلفات الزراعية النباتية في مصر حوالي ٣٠ مليون طن في السنة بالإضافة إلى المخلفات الحيوانية ومخلفات المجارى والمنازل حيث يمكن استخدامها في إنتاج بدائل الطاقة ونظرا لأن غاز الميثان هو المستهدف من الإنتاج البيولوجي فيطلق عليها الأن عملية إنتاج البيوميثان **Biomethanation,Biomethane production,Methanogenesis**

وعملية التخمر الميثاني عملية لا هوائية تحدث بواسطة مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة تسمي بكتريا الميثان **Methanogenic bacteria** حيث تستطيع هذه البكتريا أن تستخدم الأحماض العضوية والكحولات قصيرة السلسلة الناتجة من تحلل الكربوهيدرات تحت الظروف اللاهوائية كمصادر الكربون وتنتج غاز الميثان وثاني أكسيد الكربون ويتكون غاز الميثان طبقاً للمعادلات التالية :


$$CH_3-COOH \longrightarrow CH_4 + CO_2$$


$$2\ CH_3 - CH_2OH \longrightarrow 3\ CH_4 + CO_2$$


$$4\ H-COOH \longrightarrow CH_4 + 3\ CO_2 + 2\ H_2O$$


$$CO_2 + 4\ H_2 \longrightarrow CH_4 + 2\ H_2$$

ولقد أمكن استغلال قدرة بعض الكائنات الحية الدقيقة علي تحليل المواد العضوية تحت الظروف اللاهوائية في إنتاج الغاز الحيوي (البيوجاز) لاستخدامه كبديل لمصادر الطاقة التقليدية حيث يعتبر البيوجاز أحد مصادر الطاقة المتجددة كما يعتبر إنتاج البيوجاز أحد الوسائل التكنولوجية الحديثة التي تستخدم لتدوير المخلفات العضوية **Recycling**، وينتج الغاز الحيوي بواسطة الكائنات الحية الدقيقة أثناء تحليلها للمادة العضوية وذلك باستخدام المخلفات الأدمية (صرف صحي) والحيوانية (الروث وزرق الطيور) والنباتية (مخلفات زراعية وحشائش مائية) وكذلك يمكن استخدام مخلفات مصانع التصنيع الغذائي. ومخلوط الغازات الناتج هو خليط من غاز الميثان (٧٠-٦٥ ٪) وثاني أكسيد الكربون (٢٥ -٣٠ ٪) مع نسبة قليلة (٥-٣ ٪) من الغازات الأخرى التي من أهمها H_2S, SO_2 , N_2 , H_2 ، ويوضح الجدول التالي الأنواع البكتيرية المختلفة التي تتبع بكتريا الميثان والتي وضعت في تقسيم برجي ٢٠١١م ضمن البكتريا ذات الصفات الغير عادية في عائلة **Methanobacteriaceae**.

جدول (٥-١-٢): البكتيريا المنتجة لغاز الميثان.

Strains	Substrates	Products
Methanobacterium formicum	CO_2,H_2+CO_2 Formate	CH_4
Methanobacterium mobilis	CO_2+ H_2	CH_4
Methanobacterium propionicum	Propionate , Fromate	CO_2 + Acetate
Methanobacterium ruminantium	CO_2+ H_2	CH_4
Methanobacterium sohngenii	Acetate, Butyrate	CH_4 + CO_2
Methanobacterium suboxydans	Caproate and Butyrate	Propionate and acetate
Methanococcus mazei	Acetate and Butyrate	CH_4 + CO_2
Methanosarcina barkeri	Formate, CO_2+ H_2	CH_4
Methanosarcina methanica	Acetate, Butyrate	CH_4 + CO_2

ميكانيكية تكوين الغاز الحيوي Mechanism of biogas formation

ينتج الغاز الحيوي من المخلفات العضوية نتيجة لتعايش وتتابع مجموعة كبيرة من الأحياء الدقيقة ، حيث تبدأ خطوات التحلل الأولي تحت ظروف هوائية فتتحلل المواد العضوية المعقدة إلي مواد بسيطة مثل السكريات والأحماض الأمينية والأحماض الدهنية والجليسرول ، وبتقدم عملية التخمير يقل الأكسجين بالوسط تدريجيا وتنشط البكتريا اللاهوائية اختيارا ثم اللاهوائية وتتكون أحماض عضوية قصيرة السلسلة مثل الفورميك والخليك والبروبيونيك وكحولات بسيطة مثل الميثانول والإيثانول والبروبانول وبعض الغازات مثل الأيدروجين وثاني أكسيد الكربون والأمونيا، وبسيادة الظروف اللاهوائية Anaerobic conditions تنشط البكتريا المنتجة لغاز الميثان Methanogenic bacteria (الموضحة في الجدول السابق) حيث تتحلل المركبات الوسطية السابق تكوينها بواسطة الـ Acetogenic bacteria وينتج خليط من غاز الميثان وثاني أكسيد الكربون, وهذا الخليط يعرف بالغاز الحيوي Biogas، ويستعمل الغاز الناتج كبديل لمصادر الطاقة التقليدية في الإنارة والطهي والتدفئة وتوليد الكهرباء، ويستفاد من مخلفات التخمر الصلبة والسائلة المتبقية كسماد عضوي للنباتات ويسمي هذا السماد (سماد البيوجاز) وهو غني في محتواه من

المادة العضوية والعناصر الكبري والصغري المغذية للنباتات ، وفيما يلي شرح للأجزاء الرئيسية المكونة للوحدة.

الهاضم Digester

يختلف حجم الهاضم وهو وحدة إنتاج البيوجاز باختلاف كمية المخلفات المطلوب تخميرها ويوجد نظامان لبناء الهاضم:

أ-النظام الهندي ب-النظام الصيني

وفي كلا النظامين يبنى الهاضم تحت سطح الأرض، أما مخزن تجميع الغاز فيوجد فوق سطح الأرض في النظام الهندي، ويبنى الهاضم في النظام الهندي كما فى شكل [٥(١)-١] تحت سطح الأرض في صورة حجرة أسمنتية اسطوانية بارتفاع ٤,٥ م وقطر ٢ م وبه حاجز طولي يقسم الحجرة إلى قسمين لزيادة كفاءة التخمير ، وبكل قسم أنبوبة معدنية واحدة لدخول المخلفات Inlet والأخرى لخروج البقايا بعد الاستعمال Outlet ، وبجوار أو على الهاضم يقام مخزن تجميع الغازات Gas holder ، وهذا الهاضم يمكن أن يستمر في العمل لمدة عشر سنوات.



شكل ٥ (١) -١: وحدة بيوجاز على الطراز الهندى

تشغيل الهاضم

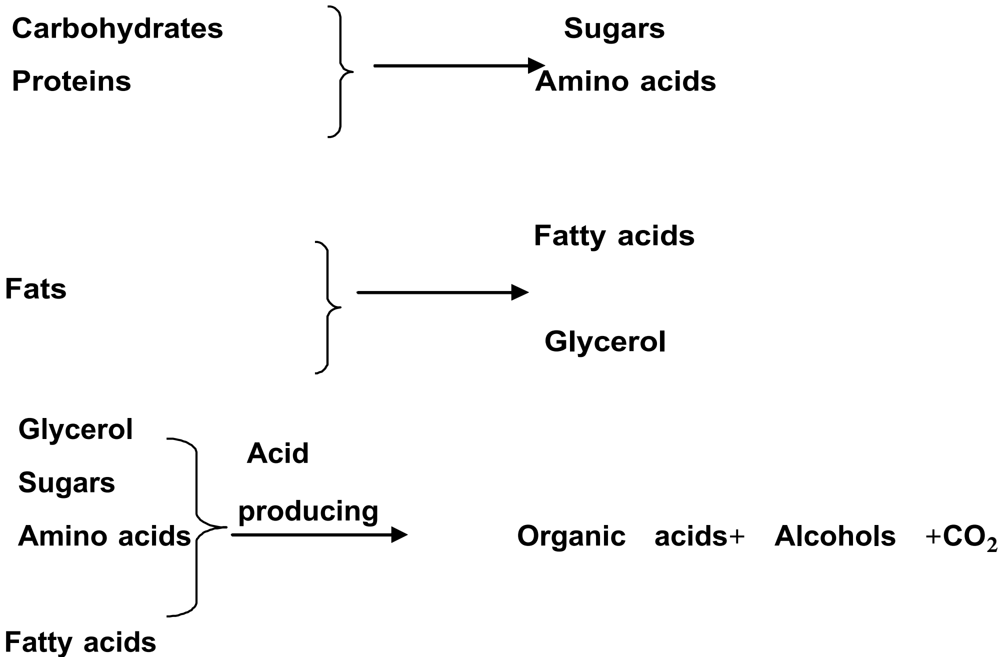
عند بدء التشغيل، يملأ الهاضم بمخلوط من الماء والمخلفات، ثم يتم التوصيل بخزان الغاز الذي يمتلئ في فترة تتراوح من ١٥-٢٠ يوم، ويراعى التخلص من هذه الكمية الأولى من الغاز حيث أنها تكون مختلطة بالهواء ,وعند اشتعالها تحدث انفجارا، لذلك يستعمل البيوجاز كوقود عند خلوه من الهواء .ويلاحظ أن كمية الغاز الناتجة في فصل الشتاء تقل بدرجة ملحوظة لانخفاض درجة الحرارة في الهاضم وللتغلب على ذلك يستعمل ماء دافئ في تخفيف المخلفات.

تكون غاز الميثان بيولوجيا Methanogenesis

تتم عملية إنتاج غاز الميثان من المخلفات العضوية نتيجة لتعايش مجموعة كبيرة من الميكروبات، وتبدأ الخطوات الأولى من تحلل المخلفات العضوية هوائيا , ثم باستمرار عملية التحلل يقل الأكسجين تدريجيا حتى تسود في النهاية الظروف اللاهوائية التي تهيئ الظروف لتكوين غاز الميثان. وتمر عملية تحلل المواد العضوية ميكروبيا لتكوين غاز البيوجاز بالمراحل الرئيسية التالية هي:

١-المرحلة الأولى : مرحلة تكوين الأحماض

في هذه المرحلة تنشط البكتريا المترممة العصوية والكروية مثل *B.cereus* , *B.megaterium* , *Clostridium* , *Bacteroides* and *Ruminococcus* وتحلل المواد العضوية المعقدة إلى مواد أبسط منها لتنتج في النهاية أحماضا عضوية دهنية قصيرة السلسلة مثل : الفورميك ، الخليك ، البروبيونيك ،البيوتيريك ، وكحولات مثل : الميثانول ، الإيثانول ، البنتانول ، وغازات مثل : CO_2, H_2 NH_3, H_2S.

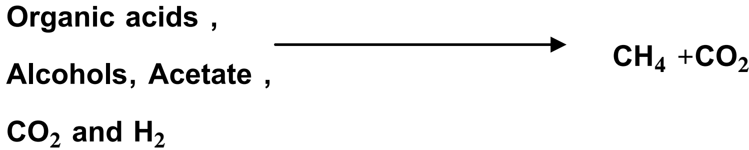


٢- المرحلة الثانية: مرحلة تكوين حمض الخليك والأيدروجين

في هذه المرحلة تقوم البكتريا بتحليل الأحماض الدهنية المتكونة في المرحلة الأولى وتحويلها إلى حمض خليك وأيدروجين.


Organic acids ⟶ Acetate $+CO_2$ $+H_2$

٣-المرحلة الثالثة: مرحلة تكوين الميثان بواسطة بكتريا الميثان، في هذه المرحلة تنشط بكتريا الميثان وتستعمل نواتج تحلل المرحلة الأولى والثانية وتكون غاز الميثان.


Organic acids ,
Alcohols, Acetate , ⟶ CH_4 $+CO_2$
CO_2 and H_2

بالإضافة إلى إنتاج غاز الميثان في المرحلة الثالثة، فقد أضيفت مرحلة رابعة تقوم فيها البكتريا ذاتية التخمر **Homoacetogenic bacteria** بتمثيل الخلات وتكوين الميثان.


Homoacetogenic bacteria
Acetate ⟶ CH_4 $+CO_2$

البكتريا المنتجة لغاز البيوجاز Methanogenic bacteria

ينتج غاز الميثان بواسطة بكتريا عديدة يطلق عليها ، وهى ذات أشكال مورفولوجية وتراكيب مختلفة غير أن لها صفات مزرعية وفسيولوجية متشابهة .وتتميز بكتريا الميثان عن غيرها من الميكروبات بأنها تحصل على الطاقة اللازمة لها بطريقة تؤدى إلى تكوين غاز الميثان (نتيجة لاختزال CO_2 وأكسدة الأيدروجين) ، وهى لا هوائية حتما ، ولا تستطيع أن تمثل السكريات البسيطة أو المعقدة كمصدر للكربون ولكن تستخدم الأحماض الدهنية والكحولات البسيطة التي تنتج من تخمر المواد العضوية بواسطة الميكروبات الأخرى ، وتمثل الأمونيا والكبريتيد كمصادر رئيسية للنيتروجين والكبريت، ويناسبها درجة حرارة ٣٠ ° م ، وpH ٧ وعمر الجيل لها يومان. كما أن البعض منها يمكن أن ينمو أوتوتروفياً مثل:

Methanobacterium omelianskii, ***M .formicicum*** **and** ***M.***
. thermoautotrophicum

العوامل التى تؤثر على إنتاج البيوجاز

Factors affecting biogas production

هناك مجموعة من العوامل التي تؤثر على إنتاج البيوجاز، وهى في مجموعها عبارة عن العوامل التي تؤثر على نشاط الميكروبات المنتجة لهذا الغاز، ومن بين تلك العوامل:

١- درجة الحرارة **Temperature**

أغلب الميكروبات المنتجة للبيوجاز عبارة عن ميكروبات محبة للحرارة المتوسطة **Mesophilic** وعلى ذلك فإن درجة الحرارة المناسبة للإنتاج هي حوالي ٣٠ °م.

٢- درجة الحموضة pH

ينتج الميثان نتيجة لتعاقب تأثير الميكروبات على المخلفات العضوية، وفي مرحلة وسطية من التخمر يزداد تراكم الأحماض العضوية وبذلك يصبح الوسط حمضي غير مناسب لبكتريا الميثان، ويضاف الجير لرفع درجة ال pH حتى يصل حول التعادل حيث يناسب بكتريا الميثان الوسط المتعادل أي حوالي pH ٧.

٣- تراكم الأيدروجين Hydrogen accumulation

يتكون H_2 أثناء تخمر المخلفات ويدخل في عملية التخمير وتكوين CH_4، حيث يؤدى إلى تكوين كحولات وبذلك يقل إنتاج CH_4 ، لذا يجرى اختبار دوري Periodical أثناء التخمر لمعالجة الموقف فور حدوث تراكم للهيدروجين.

٤- تراكم كبريتور الأيدروجين كغاز بالمخمر وزيادته عن ٢٠٠ جزء في المليون ضار بعملية تكوين غاز الميثان لذا يحول إلى أملاح كبريتيد، ويعود التأثير الضار لغاز كبريتيد الهيدروجين على عملية تكوين غاز الميثان، إلا أن له تأثير سام على البكتريا المنتجة لغاز الميثان ، كما أنه يرسب العناصر النادرة مثل الحديد، النيكل ، الكوبالت ، الموليبدنم ، وبذلك يحد من استفادة بكتريا الميثان منها.

٥-غياب الأكسجين Absence of oxygen

بكتريا إنتاج الميثان لا هوائية حتما ، وهى حساسة لوجود أقل أثار من غاز الأكسجين ويقتلها فورا، لذلك يلزم توفير وسط خالي من الأكسجين لها O2-Free phase . تنمى بكتريا الميثان الآن تحت ضغط مرتفع من H_2, CO_2 في أنابيب مقفولة بالألمونيوم Aluminum sealing مثل أنابيب المضادات وذلك لتجنب سمية الأكسجين.

٦- التسمم الأمونيومى Ammonia toxicity

تتراكم الأمونيا بالهاضم Digester نتيجة لعملية التخمر ، فإذا ما زاد تركيزها عن ٢٠٠٠ جزء في المليون فإن هذا يثبط عمل بكتريا الميثان ، ويقلل تأثير التسمم الأمونيومى بالتحميل المناسب للهاضم والتخفيف المرغوب للخليط وتقصير زمن التخمير.

٧- التحميل Loading

مدى ملأ الهاضم بالمخلفات يؤثر على إنتاج الغاز ويتحكم في عملية الملأ سعة الهاضم، ودرجة تخفيف الخليط بالماء وحرارة وسط التخمير.

٨- التخفيف Dilution

كلما زاد تخفيف المخلفات بالماء في الهاضم كلما تحصلنا على نتائج أفضل لأن الماء يعمل على طرد الهواء من الهاضم قبل بدء الإنتاج كما يساعد على تكاثر الميكروبات وتجانس توزيعها في الخليط وتقليل اللزوجة به وتختلف نسبة التخفيف حسب نوع المخلفات.

٩- اللزوجة Viscosity

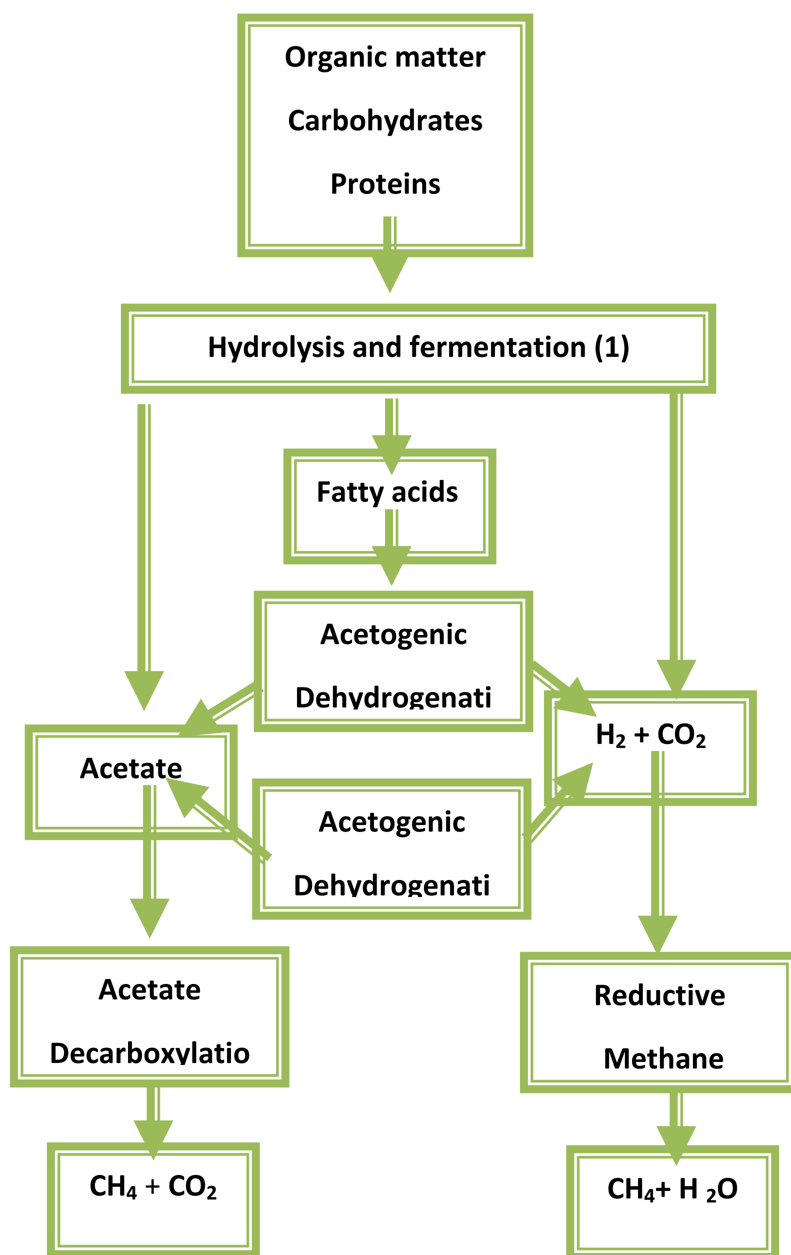
زيادة لزوجة الخليط الجاري تخميره أثناء الإنتاج بسبب الصموغ والمواد المعقدة الناتجة يثبط من نشاط بكتريا الميثان وتمنع تجانس انتشارها بالخليط، ويقل تأثير هذا العامل بالتحميل المناسب للهاضم وزيادة تخفيف المخلفات.

١٠- التقليب Agitation

تزود بعض وحدات الإنتاج بمقلبات, وهذه تساعد على زيادة كفاءة الإنتاج نتيجة لجودة تقليب خليط المكونات والتوزيع المتجانس للميكروبات بالخليط وتكسير الصموغ و الرغاوى المتكونة. كما أن تكون أغشية فوق سطح المواد المخمرة بالهاضم يمنع انسياب الغاز، لذا يلزم تكسيرها بين الحين والأخر.

١١- طبيعة المخلفات Waste nature

المواد المستعملة هي المخلفات الآدمية والحيوانية والنباتية، وقد امتد المجال الأن لتشمل مخلفات المجارى والمصانع والمصارف والحشائش وغيرها، ويتوقف الإنتاج ونسبة الغازات على طبيعة تلك المخلفات وتركيبها الكيماوي ونسبة C/N بها. وعموما فإن المواد ذات المحتوى النيتروجيني العالي كمخلفات الإنسان والطيور تعتبر أفضلها، وإذا كانت المخلفات المضافة غير غنية في النيتروجين والفوسفور فإنه يلزم إضافة هذه المواد بكميات مناسبة للخليط.



شكل ٥ (١) –٢: خطوات التخمر الميثانى

سماد البيوجاز Biogas manure

يطلق على المخلوط المتبقي من عملية تخمير المخلفات العضوية أو المحلول الخارج من المخمر اسم سماد البيوجاز ويتميز هذا المحلول بعد إنتاج البيوجاز بأن رائحته مقبولة ولا تجذب إليه الحشرات والذباب والبعوض ويخلو هذا المحلول من الميكروبات والطفيليات المرضية أو بتخفيض أعدادها فيها بدرجة كبيرة مما يجعل تداولها والتعامل معها أكثر أمنا من الناحية الصحية عن التعامل مع المخلفات العضوية الأصلية قبل عملية التخمر.

ويتوقف المحتوى التركيبي لهذا المحلول على عدة عوامل أهمها:

- أنواع المخلفات الأصلية الداخلة في عملية التخمر.
- الظروف السائدة أثناء عملية التخمر.
- مدة بقاء المادة العضوية داخل المخمر.

تمر المواد العضوية بمراحل متتالية ومتناسقة من التحليلات البيولوجية حيث يتغير تركيب هذه المواد منتجة في نهاية الأمر البيوجاز تاركة المواد التي لم تتحلل في صورة محلول أو مخلوط التخمير، ومن المعروف أن حوالي ٣٠ ٪ من وزن المادة العضوية Organic matter يتم تخميرها منتجة البيوجاز في حين يبقى باقي المادة العضوية في صورة محلول معلق تركيزه يتراوح ما بين ٥-٧ ٪ مادة صلبة. وأثناء عملية التخمر يحدث الفقد أساسا في عنصر الكربون حيث أن التحلل يحدث غالبا للمواد الكربوهيدراتية والدهون ، أما المواد البروتينية فإنه على الرغم من تعرض جزء من هذه المواد للتحلل أثناء عملية التخمير إلا أن ذلك يصاحبه في نفس الوقت عملية تخليق نشطة لتكوين خلايا البلايين من البكتريا المسئولة عن عملية تحلل المواد العضوية مما يعنى أن نسبة البروتين في المخلوط الناتج ربما تزيد عن نسبته في المخلفات الأصلية الداخلة للمخمر Fermenter وبالتالي فإن نسبة عنصر النيتروجين لا تتأثر بل ربما تزداد نتيجة عملية التخمير ، أما باقي العناصر مثل الفوسفور والبوتاسيوم وأيضا العناصر الصغرى مثل الزنك والحديد والنحاس والماغنسيوم والمنجنيز فإنها تبقى جميعها بنفس الكميات وإن كانت نتيجة للفقد في المادة العضوية .أما المواد الأخرى مثل اللجنين والتانينات فإنها أكثر مقاومة للتحلل الميكروبي إلا أنها تتعرض للتحلل الجزئي مكونة مواد مركبة ولكن أقل تعقيدا من المواد الأصلية تعرف باسم الدبال مما يكسب سماد البيوجاز صفة مميزة بوجود هذه المركبات وهى صفة تحسين مواصفات التربة الزراعية عند معالجتها بهذا المخلوط.

ويتكون سماد البيوجاز الناتج بعد إنتاج الغاز من طبقتين هما:

(أ) الطبقة السائلة: وتحتوي على عدد من المركبات والأملاح الذائبة.

(ب) الطبقة الصلبة: وتتكون أساسا من مركبات غير ذائبة بعضها مركبات عضوية والبعض الآخر أملاح غير عضوية مترسبة، ويحتوي الجزء السائل على قدر من العناصر الغذائية أقل بكثير عن تلك الموجودة في الجزء الصلب.

استخدامات سماد البيوجاز Uses of biogas manure

يتميز سماد البيوجاز عن الأسمدة العضوية الأخرى باحتوائه على نسبة عالية من العناصر السمادية مثل النيتروجين والفوسفور والبوتاسيوم والعناصر الصغرى مما يضعه في مرتبة الأسمدة المتكاملة علاوة على مادة الدبال وهى المادة العضوية الأساسية التي تحافظ وتحسن من خصائص التربة الزراعية ، كما أن سماد البيوجاز يؤدى إلى تنشيط البكتريا والفطريات وكذا بكتريا تحليل السليولوز الهوائية وبكتريا تثبيت النيتروجين بالإضافة إلى رفع معدلات امتصاص النيتروجين والفوسفور.

جدول (٥-١-٣): التحليل الكيميائي لسماد البيوجاز.

الخاصية	الوحدة	المدى
الرطوبة	٪	٢١-٢٦
المادة العضوية	٪	٤٩-٥٧
الكربون العضوي	٪	٢٨-٣٢
الآزوت الكلى		١.٤ – ١.٩٦
الفوسفور الكلى	٪	٠.٧٢– ١.٥
البوتاسيوم الكلى	٪	٠.٤٥ – ٠.٩٥
نسبة الكربون/الأزوت	٪	٢٠ :١ – ٢٢: ١
pH	–	٧,٢ – ٧,٤
الزنك ((Zn	ppm	١٢-٧٢
الحديد ((Fe	ppm	٢٠-٦١٠
المنجنيز (Mn)	ppm	٣٦-٥٢
النحاس (Cu)	ppm	٠.٨-١١
درجة التوصيل الكهربائي	Dsm	١-٥
القدرة على الاحتفاظ بالماء	٪	٢٦٩-٣٩٠
الكثافة	كجم / م^3	٣٠٠-٤٠٠

ويستخدم سماد البيوجاز إما في صورته المختلطة أو بفصل السائل عن الجزء الصلب وفي هذه الحالة يضاف السائل مباشرة إلى الأرض مع مياه الري في حين يخزن الصلب إلى أن يحين وقت استخدامه فيخلط بالأرض مثل سائر الأسمدة العضوية.

وفي حالة استخدام السماد في صورته المختلطة فهناك عدة وسائل هي:

- استخدام مخلوط السماد في صورته السائلة مباشرة.
- التجفيف المباشر تحت الظروف الجوية العادية.
- يتم تحميله على كمية من التربة (بنسبة ١:١ تقريباً).
- يتم خلطه مع كمية من التربة وكمية من بعض المخلفات النباتية بنسبة (١:١:٢) وتركه لعملية الكمر الهوائي لفترة ولحين الاستخدام.

استخدام سماد البيوجاز في إنتاج الطحالب والأزولا

يمكن استخدام السوائل في إنتاج الطحالب والأزولا نظرا لاحتوائه على كثير من العناصر الذائبة والمعادن وبذلك يمكن إنتاج أعلاف غنية بالبروتين (٣٠-٤٠ ٪ بروتين) ، وتربى الطحالب والأزولا عادة في أحواض مائية ضحلة وتتميز عامة بالإنتاج الكثيف ,وهى تعتبر لذلك وسيلة جيدة لتوفير الأعلاف للحيوانات والطيور.

الكائنات الممرضة بالمخلفات

تقع الكائنات الممرضة التي توجد بالمخلفات البرازية الأدمية والحيوانية في أربع مجاميع رئيسية:

1- Viruses as Poliomyelitis, Hepatitis, Gastroenteritis.

2- Bacteria as *Salmonella*, *Shigella*, *Cholera*, *Enteritis*, *Leptospirosis*.

3- Helminthes as Round, Pin, Hook worms, Liver fluke and Bilharzias,

وفي عملية تخمير هذه المخلفات عند درجة ٣٥°م لمدة أسبوعين لإنتاج الغاز فإن نسبة كبيرة (أكثر من٩٠٪) من هذه الكائنات الممرضة تموت خاصة الميكروبات العصوية المرضية غير أنه لوحظ أن بعض الكائنات الممرضة خاصة بويضات ديدان الإسكارس Round worms تعتبر شديدة المقاومة وتبقي حية بعد عملية التخمير، وفي مثل هذه الظروف فإنه ينصح قبل وضع المخلفات بالهاضم لإنتاج البيوجاز بعمل Pre-composting تحت ظروف لاهوائية لمدة ٣-٤ أيام لهذه المخلفات للتخلص مما بها من كائنات ممرضة.

الأهمية الاقتصادية للبيوجاز Economic importance of biogas

يستخدم البيوجاز الناتج من التخمير اللاهوائي للمخلفات العضوية في أغراض عديدة منها التدفئة والإنارة والطهي وتوليد الكهرباء أي بديل لمصادر الطاقة التقليدية.

ويمكن إنتاج البروتين الميكروبي وذلك باستعمال غاز الميثان لتنمية بعض الميكروبات مثل *Pseudomonas methanitrificans* لأن هذا الميكروب يستعمل الميثان كمصدر وحيد للكربون، كما انه يقوم بتثبيت أزوت الهواء الجوي , وقد وجد انه عند تخمير طن من زرق الدجاج تحت ظروف لاهوائية ، وإمرار الغازات الناتجة في بيئة خالية من الكربون والنيتروجين وملقحة بالميكروب السابق ومحضنة علي درجة ٣٠ °م لمدة أسبوعين فإنه ينتج ٢٨.١٧ كجم من الخلايا البكتيرية الجافة التي تحتوي ١٥.٨٥ كجم بروتين خام، وبالإضافة إلي استعمال الغاز كمصدر للطاقة أو لإنتاج البروتين Protein production فإنه من فوائد تخمير المخلفات للحصول علي البيوجاز ما يلي:

استعمال بقايا التخمير Using of digested slurry

- تستعمل المخلفات الصلبة Sludge كسماد عضوي للأراضي ، فهو سماد غني بما تحتويه من كميات كبيرة من النيتروجين (حوالي ٢٪) والفوسفات والبوتاسيوم ومعظم العناصر النادرة.
- تستعمل السوائل الناتجة Effluent في ري المزروعات وتسميدها كما يمكن استعمالها في تنمية الطحالب الخضراء عليها مثل الكلوريللا *Chlorella ellipsoids* الذي يستعمل لتغذية الأسماك أو كمصدر جيد للبروتين في العلائق.
- التخلص من المخلفات الآدمية والحيوانية خاصة في الريف مما يؤدي إلى رفع المستوي الصحي بالتخلص من التلوث الميكروبي Microbial pollution والحد من انتشار الذباب.
- توفير غاز قابل للاشتعالFlammable gas في الأرياف بديلا للأحطاب والمخلفات النباتية التي يمكن استخدامها كسماد عضوي.
- ويتميز السماد العضوي الناتج من بقايا التخمير عن السماد العضوي المصنع بالطريقة التقليدية في أن الفقد في المادة العضوية والنيتروجين يقل بدرجة ملحوظة مما يزيد من قيمته كسماد.

بعض المصاعب التي تقابل المنتج للبيوجاز

- ارتفاع تكاليف إنشاء وحدة الإنتاج Production unit خاصة إذا أستعمل لبنائها الخرسانة والطوب الأحمر.
- عدم القدرة علي التحكم في كل ظروف الإنتاج من حرارة، pH، التخفيف والتحميل، اللزوجة، تراكم الأمونيا.

- **صعوبة عزل Isolation وحفظ Maintenance مزارع بكتريا الميثان وكذلك صعوبة تحضير لقاح من بكتريا الميثان.**

ومن الأثار المفيدة التي تترتب علي تجميع المخلفات العضوية بمختلف أنواعها وتخميرها لإنتاج سماد وغاز البيوجاز هي التخلص الأمن من هذه المخلفات حيث يؤدي ذلك إلي رفع المستوي الصحي Hygiene level خاصة في الريف بسبب التخلص من الكائنات الحية الدقيقة والطفيليات Parasites الممرضة للإنسان والتي قد تنمو علي هذه المخلفات، أيضاً من الفوائد المترتبة علي التخلص من هذه المخلفات من خلال عملية التخمير اللاهوائى هي تحويل هذه المخلفات إلي نواتج هامة ذات قيمة اقتصادية عالية مثل الطاقة Energy والسماد العضويOrganic manure، أيضاً من خلال هذه العملية نحافظ علي البيئة من التلوث Pollution الذى ينتج من تراكم مثل هذه المخلفات.

(الباب الخامس-الفصل الثاني)

المعالجة البيولوجية للمخلفات لإنتاج الأعلاف غير التقليدية وفطريات عيش الغراب

Biological treatment of residues for non-traditional fodder and mushroom production

تعتبر الموارد الغذائية وخاصة البروتينية اللازمة لسد حاجة الأعداد المتزايدة من السكان أقل كثيراً من المطلوب، وقد أدى ذلك إلى معاناة الإنسان وحيواناته الاقتصادية. ولذلك فإن نقص الغذاء البروتيني سوف يمثل مشكلة مستقبلية، ومن ضمن الحلول المقترحة لحل هذه المشكلة هو استخدام الكائنات الحية الدقيقة فى المعالجة البيولوجيةBiological treatment للمخلفات لإنتاج أعلاف غير تقليدية للحيوانات ومن أهم الكائنات الحية الدقيقة التى تستخدم فى هذا المجال:

Trichoderma sp, *Aspergillus oryzae* ,*Pleurotus ostreatus*, *Chatomium cellulolyticum*, *Phanerochaete chrysosporum*

وتتلخص خطوات المعالجة في :

١-بسترة المخلفات مثل القش والأحطاب للتخلص من الملوثات الموجودة علي المخلفات ولإحداث تحلل جزئي لمكونات المخلف العضوي وترطيبها.

٢-تلقيح المخلفات المبسترة بواسطة أنواع من الفطريات لها القدرة على تكسير الروابط الموجودة في المخلفات اللجنوسليولوزية مما يعمل علي زيادة معامل الهضم لهذه المخلفات.

ويتم ذلك بتلقيح المخلفات النباتية ببعض الفطريات السابقة الذكر الغنية بمحتواها البروتينى كما يلي:

١-تقطع المخلفات إلى قطع تتراوح مابين٢-٣ سم ثم تنقع في الماء لمدة ساعتين.

٢-يتم بسترة المخلفات برفع درجة حرارة الماء إلى ٩٠° م.

٣-تنشر المخلفات مباشرة للتخلص من المياه الزائدة والوصول إلى محتوى رطوبى ٦٠ -٧٠٪.

٤-تعبأ المخلفات في أكياس سعة ٢٠ كجم في طبقات متبادلة مع اللقاح الفطرى ثم تغلف وتحضن في حجرة درجة حرارتها ٣٠ درجة مئوي لمدة ٣أسابيع.

٥-بعد انتهاء فترة التحضين تفتح الأكياس حيث يكون النمو الفطرى قد اكتمل ثم يقدم كعلف للحيوان.

ويتميز هذا العلف باحتوائه على بروتين بنسبة ١٥ - ٢٠ ٪ ومعامل هضم مرتفع يصل إلى ٥٥٪ ويعتبر مصدر علف رخيص وسهل ويمكن إنتاجه طوال العام ، ويمكن استخدام بعض الإضافات العضوية التي تنتج من مخلفات التصنيع الزراعي مثل قشور البسلة والفول السوداني ولقد أوضحت

نتائج البحوث أنه من خلال المعالجة البيولوجية يمكن رفع المحتوي البروتيني Protein content لكل من قش الأرز وحطب الذرة إلي ١٢٪ بروتين خام ، وبذلك يتضح أن معالجة مثل هذه المخلفات بيولوجيا يمكن أن تساهم في سد جزء كبير من العجز في علائق الحيوانات في مصر حيث يتم استيراد Importation حوالي ٣ مليون طن من الأعلاف سنويا بالعملة الصعبة.

مميزات الأعلاف الناتجة بالمعالجة البيولوجية

١- ارتفاع نسبة البروتين حيث تصل إلي ٣٠٪.
٢- العلف الناتج ذو درجة هضم عالية (معامل التحويل منه عالي).
٣- العلف الناتج مستساغ بالنسبة للحيوانات.
٤- العلف الناتج ذو محتوي عالي من الطاقة.
٥- يتميز العلف الناتج بزيادة محتواه من الفيتامينات والأملاح المعدنية.

وفيما يلى بعض الأمثلة لإنتاج أعلاف غير تقليدية أخرى :

يمكن استخدام فطر *Chatomium cellulolyticum* المحلل للسليولوز فى إنتاج الأعلاف من المواد اللجنوسليولوزية ، حيث يستطيع هذا الفطر تحليل مثل هذه المواد والنمو عليها وتتميز هيفات هذا الفطر بقدرة شديدة على اختراق المواد السليولوزية مما يجعل هذا الفطر ملائم إلى حد كبير للاستخدام فى التخمرات الصلبة، وتتميز تقنية التخمير الصلب بأنها تقنية بسيطة وغير مكلفة ، كما تتميز أيضاً بانخفاض الطاقة اللازمة للتشغيل ، ولذلك يستخدم هذا الفطر فى إنتاج الأعلاف من المخلفات النباتية Botanical residues اللجنوسليولوزية.

يتم معاملة المخلفات النباتية اللجنوسليولوزية بالبخار تحت ضغط مرتفع ، والمخلفات المعاملة بهذه الطريقة تصبح ذات قابلية عالية للهضم digestion Highly بكرش الحيوان تصل إلى ٨٠٪ حيث يمكن تغذية الحيوانات عليها بهذه الصورة كمصدر للطاقة.

أما عند الرغبة فى إنتاج علف ذو نسبة بروتين عالية يتم تخمير المخلفات النباتية اللجنوسليولوزية بواسطة فطر *Chatomium cellulolyticum* حيث يمكن فى هذه الحالة الوصول بنسبة البروتين إلى ٣٠٪ وبذلك يتم إنتاج علف غنى فى محتواه من البروتين والطاقة.

كذلك يمكن استخدام فطر *Paecilomyces variotii* فى إنتاج علف حيوانى غنى فى محتواه من البروتين والفيتامينات وذلك بتنميته على المخلفات مثل الشرش Whey والمولاس ومخلفات الفواكه ومخلفات صناعة الورق، وتستخدم أيضاً تقنية التخمير الصلب فى تحضير وتجهيز الكثير من الأعلاف الحيوانية بالتخمير لرفع محتواها من البروتين ويمكن استخدام فطريات عيش الغراب فى هذا المجال.وفى هذه التقنية يتم طحن القش ثم يطبخ بالبخار ثم يرش بحمض كبريتيك ٠,٥ عيارى بنسبة ٣ أجزاء حمض :١جزء قش ، ثم يتم تحليل القش مائياً بالطبخ بالبخار ثم يعامل

بالأمونيا أو هيدروكسيد الأمونيوم لرفع رقم الحموضة إلى ٤.٥ ، بعد ذلك يتم التخمير تحت ظروف متحكم فيها تماماً لمنع حدوث أى تلوث ، حيث يتم التلقيح بأحد الكائنات الحية الدقيقة التالية:

-*Candida utilis*

-*Trichoderma viride*

-*Aurobasidium pullulans*

وتختلف القيمة الغذائية للأعلاف الناتجة من المعالجة البيولوجية للمخلفات بواسطة الكائنات الحية الدقيقة باختلاف المخلفات المستخدمة، طبيعة الوسط النامى به هذه الكائنات الحية وكذلك باختلاف نوع الميكروب المستخدم فى المعالجة البيولوجية.

دور الكائنات الحية الدقيقة فى حفظ الأعلاف الخضراء (السيلاج)

Role of microorganisms in preservation of green feeder

إن ظاهرة عدم توفر إنتاجية المرعي الأخضر طوال العام تبدو بارزة حيث يوجد موسم مرعي مؤقت يمتد حوالي ٦ أشهر (ديسمبر –مايو) لمحصول العلف الرئيسي وهو البرسيم المصري وبقية العام يكاد يكون إنتاج الأعلاف الخضراء معدوم ويتطلب التخطيط الغذائي السليم حفظ جزء من العلف الأخضر المتوفر في الموسم الذي يندر فيه وجود العلف الأخضر Green fodder .

لذا يجب تغطية تلك الفترات بعلف أخضر محفوظ بأحد طرق الحفظ (تجفيف في صورة دريس أو سيلاج) وبالتالي سنجد أنه باستخدام طرق الحفظ هذه يتم توزيع إنتاجية العلف الأخضر وإمداد الحيوانات بمصدر ثابت ومنتظم طوال العام.

ففي طريقة التجفيف (الدريس) يتم تجفيف المحصول حتي يصل محتواه من الرطوبة إلي أقل من ٢٠٪ بحيث لايحدث به تخمرات غير مرغوبة Non-desirable fermentation تسبب تعفن وفساد العلف الأخضر، أما السيلاج فهو عبارة عن العلف الأخضر الرطب المخزون فى صومعة Silo أو حفرة Pit تتوفر فيها الظروف المناسبة للتخمير والتخزين ويعتبر السيلاج أفضل طريقة لحفظ العلف الأخضر الزائد ، والحفظ يعمل علي تشجيع نوع معين ومرغوب من التخمر اللاهوائي في العلف الأخضر المحفوظ وتعمل نواتج هذا التخمر علي الحد من نشاط التخمرات الأخرى غير المرغوب فيها والتي تسبب تعفن وتحلل العلف الأخضر.

مقارنة بين الدريس والسيلاج

١- السيلاج أكثر احتفاظا بنسبة البروتين والكاروتين عن الدريس.

٢- إزالة المحصول من الحقل لعمل السيلاج يقلل من فقد المواد الغذائية.

٣ - المحاصيل التي تعطي دريساً سيئاً يمكن حفظها كسيلاج جيد.

٤ - احتياج السيلاج إلي مساحة أقل للتخزين مقارنة بالدريس الذى يحتاج إلى مساحة كبيرة.

٥- عدم حدوث الاشتعال الذاتي في السيلاج الذي قد يحدث بالدريس عند تخزينه.
٦ - ارتفاع درجة استساغة الحيوانات للأعلاف المحفوظة في صورة سيلاج.
٧ - سهولة حفظ الحشات الأولي من الأعلاف العالية الرطوبة في صورة سيلاج حيث أن تجفيفها كالدريس يكون صعباً.

السيلاج (علف مخزون)

السيلاج هو علف أخضر محفوظ بمعزل عن الهواء، ونتيجة تنفس الخلايا النباتية والبكتريا الهوائية يستهلك الأكسجين وينتج ثانى أكسيد الكربون وبالتالى يتحول الوسط إلى ظروف لاهوائية، والحفظ يتم بواسطة عمليات التخمر حيث ينتج عن التنفس والتخمرات اللاهوائية الكحول والأحماض العضوية والتى تزيد من حموضة العلف إلي درجة توقف عوامل الفساد مثل البكتريا المحللة للبروتين مثل ***Cl.sporogenes*** والمنتجة لحمض البيوتريك مثل ***Cl.butyricum***.

والحفظ يتم فيما يعرف بالصومعة أو السيلو **Silo** وهي إما تكون في صورة حفرة أو حوائط أو أبراج أسمنتية ومدة التخمر ٦٠ يوماً ، ومن أهم المخلفات الزراعية التي يمكن أن تستخدم في إنتاج السيلاج عيدان الذرة الشامية الخضراء - عروش نباتات الفول البلدي الأخضر ومخلفات محاصيل الخضر والذرة الصفراء.

مزايا وفوائد السيلاج Advantages and benefits of silage

١-يؤدى حفظ محاصيل الأعلاف الخضراء فى صورة سيلاج إلى تقليل الفاقد الناتج عن التخزين الجاف.
٢-يحتفظ السيلاج بنسبة أعلى من الطاقة والبروتين والكاروتين وذلك مقارنة بالدريس.
٣ -يمكن توفير السيلاج كعلف حيواني في أى وقت من السنة وبأقل التكاليف.
٤-إمكان حصاد أجزاء المحاصيل التي سيصنع منها السيلاج تحت أي ظروف جوية يمكن العمل تحتها فى الحقل.
٥ -زيادة نسبة الحشائش في الأعلاف الخضراء تعطي دريس سيئ ولكن يمكن حفظها فى صورة سيلاج جيد.
٦-يتميز السيلاج بنكهة مقبولة وطعم مستساغ وتقبل عليه الحيوانات مما يزيد الإنتاج الحيواني.
٧-القضاء على نسبة كبيرة من الحشائش حيث أن بذور الحشائش تفقد قدرتها على الإنبات عند وجودها فى السيلاج وبالتالي فإن تكرار عمل السيلاج يقلل من انتشار الحشائش فى الأراضي الزراعية.
٨-يمكن ضغط السيلاج فى حيز محدود ولذا يحتاج إلى مساحات أقل للتخزين.
٩ -عدم وجود فرصة للاشتعال الذاتى أو الحريق كما فى حالة الدريس.

١٠-أثبتت الدراسات والبحوث الحديثة أن السيلاج أكثر أهمية في تغذية حيوانات اللبن خاصة فى الصيف عند قلة الأعلاف الخضراء.

١١-ارتفاع معامل هضم المركبات الغذائية نتيجة لفعل الميكروبات والإنزيمات النباتية.

١٢-يمكن استخدامه كبديل بجزء من مساحة البرسيم مما يؤدي إلى تخفيض مساحة البرسيم وزراعتها بالقمح.

١٣-تصنيع السيلاج يؤدي إلى إخلاء الأرض مبكراً شهراً مما يمكن من زراعة عروة أخرى من الذرة أو أي محصول أخر.

١٤-تصنيع السيلاج يخلص البيئة الزراعية من الحطب الذي يعتبر مصدر للحرائق والأفات وهذا بدوره يعمل على تقليل تلوث البيئة.

أهم الشروط الواجب توافرها في السيلاج الجيد

١- أن يكون ذو طعم ورائحة مقبولة وخالي من حمض البيوتريك.

٢- أن يكون خالي من التعفنات Putrefactions.

٣- تتراوح رقم حموضته من ٣.٥ – ٤.٢.

٤- نسبة الأمونيا أقل من ١٠٪ من نسبة النيتروجين الكلي.

٥- نسبة حمض اللاكتيك من ٢-٣ ٪.

أهمية السيلاج في تغذية الحيوان

Importance of silage in animal nutrition

١- يعتبر السيلاج علف ذو قيمة غذائية عالية.

٢- ارتفاع معامل الهضم للمركبات الموجودة به وذلك لتحللها بفعل الكائنات الحية الدقيقة والإنزيمات التى تفرزها أثناء عملية السيلجة.

٣- يشكل حيز صغير بالمقارنة بالمساحة التي تشغلها العلائق الجافة المخزنة.

خطوات صناعة السيلاج Steps of silage manufacture

تتلخص طريقة صناعة السيلاج في الأتي:

١- تقطيع المخلفات إلي قطع صغيرة.

٢- يتم إضافة لقاح من بكتريا حمض اللاكتيك مثل *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* مع إضافة كمية من مولاس قصب السكر بنسبة تصل إلي ٣٪ من وزن المخلفات، وهذه الإضافات يتم إضافتها بعد ضبط نسبة الرطوبة للمخلفات إلي ٦٠ ٪ وهي أنسب درجة رطوبة لعملية التخمر.

٣- توضع المخلفات الملقحة في صومعة أو في حفرة ثم تكبس بالضغط بالأيدي.

٤- يغطي سطح الحفرة أو تغلق الصومعة بعد اكتمالها لمنع دخول الهواء وذلك باستخدام البلاستيك مع وضع أثقال علي الغطاء وتترك لمدة تصل إلي ٦٠ يوماً علي الأقل.

٥- في خلال هذه المدة تنمو البكتريا الهوائية والفطريات الملوثة لأسطح هذه المخلفات ثم يقف نموها بعد فترة نتيجة لاستهلاك الأكسجين، تنشط البكتريا اللاهوائية بعد ذلك حيث تتحول السكريات الموجودة إلي أحماض عضوية ويتم ذلك بواسطة بكتريا حمض اللاكتيك الكروية ويستمر عمل هذه البكتريا حتي يصل تركيز الأحماض العضوية إلي درجة معينة لا تتعدى ١٪.

بعدها تنشط بكتريا حمض اللاكتيك العصوية مثل *L. plantarum , L. brevis* وتنتج كمية كبيرة من الحموضة تسبب تثبيط لنشاط الكائنات الحية الدقيقة الأخرى وخصوصاً تلك المحللة للبروتين.

طرق إعداد السيلاج Methods of silage preparation

١-الطريقة العادية بالتخمر

وهى الطريقة الأكثر انتشارًا وفيها تتخمر الكربوهيدرات الذائبة (سكريات ونشويات) الموجودة بالنبات بواسطة البكتريا اللاهوائية إلى حمض اللاكتيك مما يؤدى إلى خفض رقم pH إلى ٤ تقريبا ويعمل حمض اللاكتيك الناتج كمادة حافظة تمنع نمو البكتريا والفطريات التى تحدث تعفن للبروتين.

٢-طريقة التعقيم

وهى أقل انتشارًا وتشمل:

أ – إضافة الحمض مباشرة إلى العلف Direct acidification وتسمى طريقة A . I . V نسبة إلى مكتشفها الفلندى A.I . Virtanen ، وفيها يضاف محلول مجفف من الأحماض المعدنية مثل الهيدروكلوريك والكبريتيك بالرش على طبقات العلف الأخضر أثناء ملىء السيلو غير أن هذه الطريقة غير مرغوب فيها فى معظم البلاد نظرا لما تسببه هذه الأحماض من إتلاف لحوائط السيلو وللمعدات المستخدمة ولملابس العمال.

ب – إضافة مواد كيميائية معقمة Sterilizing agents مثل مادة ميتا بيسلفايت الصوديوم التى تضاف حبيباتها إلى طبقات العلف الأخضر أثناء ملئ السيلو بمعدل ٥٠ كجم / للطن وعندما تذوب حبيبات المادة فى رطوبة العلف فأنها تتحول إلى حمض يعمل كمادة حافظة تمنع نمو الأحياء الدقيقة، وتكون القيمة الغذائية للسيلاج الناتج بطريقة التعقيم مرتفعة ومشابهة تقريبا للقيمة الغذائية للعلف الأخضر الأصلي وذلك لعدم حدوث فقد يذكر فى المحتويات الغذائية.

أنواع المكامير حيث توجد منها خمسة أنواع:

١-الحفرة Pit

عبارة عن فتحة مستديرة كبيرة محفورة فى الأرض تكون ضيقة عند القاع ومتسعة عند السطح أرضيتها وحوائطها أسمنتية قاعها مرتفعا عن منسوب الماء الأرضي بمسافة كافية ويراعى أن يكون مكان الحفرة بعيدا عن الترعة قريبا من المصرف.

٢-الخندق Trench

عبارة عن مستطيل كبير محفور فى الأرض ضيق عند القاع ومتسع عند السطح وحوائطه وأرضيته أسمنتية وتكون الأخيرة منحدره بطول الخندق لتسمح بصرف السوائل المختلفة من ضغط كتلة العلف الأخضر، ويراعى أن يكون قاع الخندق مرتفعا عن منسوب الماء الأرضي بمسافة كافية ويختار مكانه بحيث يكون بعيدا عن الترعة قريبا من المصرف ويتحاشى وجود أركان بحوائط الخندق، هذا وطريقتا عمل السيلاج فى الحفرة أو الخندق يناسبان المربى الصغير.

٣-الصندوق Box

وهو يشبه الخندق ولكنه فوق سطح الأرض ومفتوح من الناحيتين الضيقتين وتعمل جوانبه من العروق وألواح الخشب وتكون مائلة من أعلى إلى الخارج وقد تكون الجوانب مبنية تبعا لتوافر الإمكانيات وقد يكون الجزء الأكبر من السيلو الصندوقى فوق الأرض والباقى تحت الأرض وعموما يكون قاعه مرتفعا عن مستوى الأرض ، هذا ويستخدم الجرار (التراكتور) فى ضغط كتلة العلف الأخضر فى طبقات سمكها ٢٠ - ٣٠ سم أثناء مليء سيلو الحفرة أو الخندق أو الصندوق وعندما تمتلئ السيلو إلى قمتها تغطى جيدا بالبولي إيثلين وتوضع فوقه أشياء ثقيلة (طوب – حجارة).

٤-البرج Tower

عبارة عن بناء رأسي اسطواني الشكل وقد ينشأ بالخرسانة المسلحة أو بألواح معدنية ثقيلة ويزود البرج بمجموعة من الأبواب المعدنية تكون فى جانب واحد من السيلو (مقاسها ٦٠ × ٦٠ سم وتبعد عن بعضها بمسافة مقدارها ١٨٠ سم) وتغلق هذه الأبواب أثناء ملء السيلو بالعلف الأخضر وتفتح عند تفريغ السيلاج منه ويغطى اسطوانة البرج من أعلى بغطاء معدنى قمعى الشكل يرتكز على الجدران داخل مجرى عرضه ١٠ سم مملوء بالمولاس لمنع تسرب الهواء إلى الداخل وتستخدم آلة رافعة لحمل العلف الأخضر عند ملء سيلو البرج به ولا يحتاج هذا النوع من السيلو إلى كبس وضغط العلف الأخضر حيث أن الثقل الطبيعى للكتلة الخضراء كاف لهذا

الغرض وتزود أسطوانة البرج من أسفل بفتحة تصريف للتخلص من السوائل الناتجة من ضغط العلف.

٥-الكومة Pile

لعمل الكومة يختار مكان مرتفع من الأرض وترص فوقه طبقة من الحطب بارتفاع متر وعلى شكل دائرة قطرها٥ – ١٠ مترا ويحش البرسيم ويترك ليجف قليلا ثم يرص فى حزم فوق طبقة الحطب ويضغط علية بأرجل العمال لطرد الهواء منه مع تقوية محيط الكومة بجدايل من البرسيم وفى اليوم التالى توضع طبقة أخرى من البرسيم وتضغط كسابقتها وهكذا فى الأيام التالية حتى تصل الكومة إلى الارتفاع المطلوب ثم تثقل من أعلى بالحجارة أو الطوب بعد تغطية سطحها وجوانبها بطبقة من الطين المعجون بالتبن وذلك لتبقى الكتلة الخضراء بمعزل عن الهواء وتحفر قناة فى الأرض حول الكومة توصل إلى المصرف أو إلى حفرة بالأرض لتتسرب إليها السوائل الناتجة من الكومة وبعد نحو شهرين يتم تحول البرسيم إلى سيلاج ويقدم إلى الماشية بعد تهويته.

التغيرات التى تحدث أثناء السيلجة

١ -تغيرات هوائية Aerobic changes

وهذه تتم في وجود الأكسجين في الصومعة وتشمل تنفس الخلايا النباتية ونمو الخمائر والفطريات، حيث يؤدي التنفس إلي أكسدة الكربوهيدرات الذائبة وإنتاج ثاني أكسيد الكربون والماء وتنطلق الطاقة علي صورة حرارة ترفع من درجة حرارة الكتلة العلفية، كما أن الخمائر والفطريات تستمر في النمو وأداء التنفس وإنتاج الحرارة حتي ينفذ الأكسجين الموجود في السيلو.



$$C_6H_{12}O_6+6O_2 \longrightarrow CO_2+6H_2O+Energy$$

٢- تغيرات لاهوائية Anaerobic changes

تبدأ عند نفاذ الأكسجين داخل الصومعة (السيلو) حيث تبدأ البكتريا اللاهوائية في نشاطها بالإضافة إلي خلايا النبات المتبقية والخمائر والفطريات تستمر في التنفس اللاهوائي بأكسدة الكربوهيدرات أيضا وإطلاق حرارة (لكنها أقل كثيراً من الحرارة الناتجة عن التنفس الهوائي) مما يترتب عليه بطئ ارتفاع حرارة الصومعة ولكن أهم النواتج لهذه العملية هي إنتاج الكحول والأحماض العضوية التي منها المتطاير مثل الخليك والبروبيونيك والبيوتيريك والغير متطاير مثل اللاكتيك الذي يعتبر أهم الأحماض العضوية في السيلاج وهذه الأحماض تلعب الدور الأساسي في حفظ السيلاج وإعطاء الطعم المستساغ.

أهم أنواع البكتريا المنتجة للحموضة هي:

١- بكتريا حمض اللاكتيك

هي بكتريا اختيارية تنمو هوائياً ولاهوائياً، ولكن نشاطها يكون أعلي عند نقص الأكسجين، ويناسبها حرارة ٢٧-٣٧ °م، ولها القدرة علي تحمل الحموضة العالية.

ومن أهم أنواعها ***Lactobacillus brevis*** وهذه البكتريا تنتج حمض اللاكتيك من تخمر السكريات حيث يعتبر هذا الحمض هو عامل الحفظ الرئيسى فى السيلاج.

٢ - بكتريا حمض البيوتيريك

هذه البكتريا تنتج حمض البيوتيريك المتطاير الغير مرغوب فيه لأنه يسبب رائحة متزنخة للسيلاج، بجانب أن هذه البكتريا تحلل البروتين إلي أحماض أمينية وأميدات ثم إلي أمونيا مما يتسبب في نقص بروتين المادة المحفوظة. وهي تنشط في مدي حراري من ٣٠-٣٥ °م وكذلك في الحموضة المنخفضة ويقف نموها عند pH ٤.٢، وعندما تصل حموضة العلف المحفوظ إلي ٣.٧ يقف النشاط البكتيري تماماً وبالتالي يحفظ العلف ومن أهم أنواعها: ***Clostridium sporogenes*** **.*Clostridium butyricum***

٣- تغيرات أخري ومنها:

- حدوث تغير في لون العلف إلي الأصفر الباهت، وهذا عائد إلي إزالة الماغنسيوم من الكلوروفيل بفعل الأحماض العضوية أو نتيجة أكسدة الكاروتين.

- حدوث روائح كريهة تنتج عن قلة الهواء بالصومعة وما يتبعه من انخفاض فى الحرارة (٢٠ – ٢٩ °م) وحدوث تخمرات بواسطة بكتريا حمض البيوتيريك.

- تكون اللون البني الداكن نتيجة أكسدة المواد العضوية أثناء التنفس الهوائي وارتفاع الحرارة عن ٥٠ ° م نتيجة لبقاء كمية كبيرة من الهواء في الصومعة.

الظروف المثلي لعمل السيلاج

Optimum conditions for silage manufacturing

تتلخص تلك الظروف في التقطيع الجيد للنباتات المستخدمة مع الكبس الجيد الذي يتبعه وجود كمية هواء تكفي فقط لرفع درجة الحرارة إلى ٣٨ ° م وهي مناسبة لعمل بكتريا حمض اللاكتيك، والهدف من التقطيع الجيد هو:

١- سهولة تعريض محتويات الخلايا والأنسجة النباتية لفعل الميكروبات لكي تنمو وتنتج الأحماض التي تخفض الـ pH.

٢- سهولة الكبس.

٣- سهولة أخذ السيلاج من الكومة دون تعريضها لدخول هواء كثير.

الإضافات المستخدمة في عمل السيلاج Additives used for silage

الغرض الأساسي من تلك الإضافات هو حفظ السيلاج مع ارتفاع جودته وهي تقسم إلي ثلاثة مجموعات أساسية:

أ- إضافات تنشط عملية التخمر في السيلو ومنها المولاس والحبوب-الأعلاف الجافة-مستحضرات البكتريا-مستحضرات الخمائر-الإنزيمات.

ب- إضافات تثبيط عملية التخمر في السيلاج ومنها الأحماض-أملاح الأحماض.

ج- إضافات ترفع القيمة الغذائية للسيلاج ومنها اليوريا-الأمونيا-الحبوب-حمض البروبيونيك-الأملاح المعدنية-الحجر الجيري-ملح الطعام.

وتعتبر تلك المجموعة من الإضافات أفضل أنواع الإضافات حيث أنها لاترفع فقط من القيمة الغذائية للسيلاج بل تساعد أيضا في عمليات التخمر وسنوضح بصفة عامة أثر إضافة بعض المواد المساعدة علي حفظ السيلاج وارتفاع جودته.

١- السكريات (الكربوهيدرات) هي المادة الأساسية في إتمام عملية التخمر وفي حالة عدم وجود كمية كافية منها فإن النشاط البكتيري يتجه إلي هدم البروتين للحصول علي الطاقة مما يقلل من القيمة الغذائية للسيلاج علاوة علي التأثير السيئ للمركبات النيتروجينية الناتجة علي طعم ورائحة السيلاج.

ونلاحظ أن المحاصيل البقولية والنجيلية الصغيرة فقيرة في المحتوي الكربوهيدراتي مع ارتفاع نسبة الرطوبة عن ٧٠ ٪ وبالتالي تصبح كفاءة التخمر قليلة ولضمان جودة التخمر وبالتالي ارتفاع نوعية السيلاج يجب إضافة مواد كربوهيدراتية بنسبة ٠.٥ -١٪ من مادة العلف المحفوظ مثل:

أ – المولاس: حيث أنه يحتوي علي٥٠-٦٠ ٪ سكر ويضاف بمعدل ١٤ – ١٨ كجم/ طن للبقوليات أو ٩-١١كجم/ طن للنجيليات.

ب- الحبوب المطحونة مثل الذرة المجروشة-الشعير-القمح -الذرة الرفيعة – السورجم بمعدل٧٠-٩٠ كجم/ طن بقوليات و٣٠ – ٣٥ كجم/طن للنجيليات، وتفضل الحبوب المطحونة عن المولاس في حالة الأعلاف العالية الرطوبة حيث أنها تمتص الرطوبة الزائدة وتقلل الرشح.

٢- بما أن هدف التخمر هو إنتاج حمض اللاكتيك والخليك لرفع الحموضة لدرجة كافية لوقف النشاط البكتيري فإنه يمكن الوصول لنتيجة مماثلة لارتفاع الحموضة بإضافة الأحماض المعدنية مثل حمض الكبريتيك أو الهيدروكلوريك بمعدل ١٢ -١٦ لتر حمض مخفف لكل طن علف، وهذه النسبة سترفع حموضة العلف إلي ٣.٦ -٤ وتوقف نشاط الخلايا وتحفظ البروتين والكاروتين من التحلل وتعطي سيلاج جيد الطعم ولكنها مكلفة وقد تسبب ضرر للسيلو أو للعاملين.

٣- خفض نسبة الرطوبة في المحاصيل العالية الرطوبة قبل كبسها إلي٦٠ -٦٨ ٪ وذلك بالسماح لها بالذبول الجزئي بعد تقطيعها تعطي سيلاج جيد مستساغ، وتوجد ظروف أفضل لنشاط بكتريا حمض اللاكتيك ويثبط نشاط بكتريا حمض البيوتيريك أو يمكن استخدام المواد المعدلة للرطوبة مثل قوالح الذرة -الحبوب المجروشة أو الدريس المطحون وذلك لامتصاص السوائل العصيرية والرطوبة الزائدة وتقليل فقد المواد الغذائية بالرشح (طن السيلاج يحتاج إلي ١٨٠كجم دريس جاف ليعدل محتوي الرطوبة من ٦٥ إلي ٧٥٪).

٤- إن إضافة المزارع الغنية ببكتريا حمض اللاكتيك إلي العلف لتشجيع تكوين هذا الحمض يساعد علي إعطاء سيلاج جيد بشرط توفر السكريات بدرجة ملائمة في نفس الوقت.

٥- في حالة الاحتياج إلي رفع نسبة بروتين السيلاج، يمكن إضافة اليوريا إلي السيلاج حيث إنها تؤدي إلي رفع نسبة البروتين نتيجة لفعل الميكروبات في السيلاج في تخليق البروتين به، وكذلك تزداد الأحماض الأمينية الموجودة في السيلاج وتزداد نسبة معامل هضم البروتين وعادة يستخدم نسبة ٠.٥ ٪ (٥٠٠ جم يوريا لكل ١٠٠كجم سيلاج) وقد يستعاض عن اليوريا بكبريتات الأمونيوم أو محلول الأمونيا.

ويمكن تلخيص القواعد الأساسية لنجاح عمل السيلاج في الأتي:

١-استبعاد الهواء وعدم وجود الأكسجين (توفر الظروف اللاهوائية).

٢-وجود نسبة رطوبة تتراوح من ٦٥ -٧٠ ٪.

٣-تشجيع ارتفاع حرارة الكتلة العلفية إلي حوالي٣٧ °م.

٤-توفر مقدار كبير من الكربوهيدرات القابلة للتحلل بواسط بكتريا حمض اللاكتيك.

٥-الكبس الجيد في المكمورة واستخدام غطاء جيد محكم لمنع دخول الهواء.

٦- الوصول إلى pH٤ بسرعة لوقف نشاط البكتريا الغير مرغوبة.

القيمة الغذائية للسيلاج Nutritional value of silage

السيلاج الجيد لا يختلف عن العلف الأخضر المصنوع منه في القيمة الغذائية وإن كان معظم النيتروجين به يكون في صورة مواد غير بروتينية وترتفع به نسبة الأحماض العضوية الطيارة وغير الطيارة.

الحكم علي جودة السيلاج Evaluation of silage quality

السيلاج الجيد يتميز بالأتي :

١-نسبة الأمونيا لا تزيد عن ٨٪ وهذا يدل علي أن السيلاج جيد والتفاعلات تتم بطريقة جيدة ولكن إذا زادت عن ١٥ ٪ فيكون السيلاج ردئ مع زيادة هدم الأحماض الأمينية.

٢-درجة الـ pH إذا قلت عن٣ يعتبر السيلاج رديء وأكثر من ٥ يعتبر السيلاج رديء أيضاً وفاسد والدرجة المثالية هي ٣.٦ - ٤.

٣-الحكم علي جودة السيلاج من خلال نسبة حمض اللاكتيك بالنسبة إلي الأحماض العضوية الأخرى فكلما زادت نسبة اللاكتيك إلي باقي الأحماض كان السيلاج جيد أي أنه بانخفاض نسبة حمض البيوتيريك والخليك إلي الأحماض الكلية يكون السيلاج جيداً.

٤-كلما كان لون السيلاج قريب من اللون الطبيعي للمادة الخضراء أو بني فاتح أعطي دلالة علي جودة السيلاج.

٥-يمكن الحكم علي السيلاج بأنه جيد في حالة الاحتفاظ بالأوراق والسيقان بحالة جيدة.

٦-كلما كان هناك أثار طفيفة من حمض البيوتيريك ورائحة الأمونيا كلما أعطي ذلك دلالة علي جودة السيلاج.

٧-الاستساغة حيث نجد أن السيلاج جيد النوعية هو الذي يكون ذو طعم حمضي حيث تكون فيه نسبة حمض اللاكتيك عالية، وقد يوجد أحياناً نسبة ضئيلة من حمض الخليك، أما إذا ازدادت فيه النواتج الثانوية مثل حمض الفورميك والبروبيونيك والبيوتيريك فهذا دليل على أن السيلاج غير جيد وطعمه غير مستساغ من قبل الحيوان.

٨-البنية والقوام حيث نجد أن السيلاج الجيد تكون نسبة الألياف فيه مقبولة وتعطي السيلاج بنية إسفنجية قريبة من العشب الأخضر بينما في حالة وجود سيلاج نسبة الرطوبة فيه عالية أو تم حشه قبل الإزهار وتعرض للهواء الجوي مما أدى إلى تعفنه فإن نسبة الألياف فيه تكون منخفضة وقوامه غير إسفنجي بل كتلته متراصة على بعضها.

بعض التطبيقات فى إنتاج السيلاج

أولا: إنتاج السيلاج من البرسيم Silage production from clover

يعتبر إنتاج السيلاج من البرسيم أحد المحاولات الجادة للاستفادة إما من الحشات الأولي من البرسيم عالية الرطوبة والبروتين ومنخفضة الألياف والدهن نسبياً مما تسبب حالات نفاخ وإسهال للحيوانات المغذاة عليها، أو لسرعة إخلاء الأرض في حالة زراعة القطن بعد برسيم التحريش لإعدادها بصورة جيدة لإمكانية زراعة القطن في ميعاد مناسب وظروف بيئية ملائمة مما يزيد من المحصول الناتج.

ويراعي الأتي عند عمل المكمورة:

١- تغليف أرضية الكومة بالمشمع البلاستيك ويتم وضع ٤-٥ طبقات من البرسيم علي أن تسوي وتكبس كل طبقة جيداً وبعد إتمام عمل الكومة يضغط كل محتوي الكومة إما بالجرار أو بأي وسيلة ضغط (برميل مملوء ماء أو رمل) لكي نتخلص من أكبر كمية هواء موجودة بالحفرة، ثم يتم تغطية

الحفرة بنفس المشمع البلاستيكي الموجود علي حواف الحفرة ثم يتم تغطية المشمع بطبقة من التراب أو الرمل.

٢- لتنشيط ميكروبات السيلاج وخاصة في حالة النباتات منخفضة المحتوي من المواد السكرية يضاف ٢-٣ ٪ مولاس قصب السكر.

٣- يجب تعديل نسبة الرطوبة في المادة المستخدمة المراد حفظها بتقليلها لتصل إلي المدي الجيد وهو ٦٥-٧٠ ٪ رطوبة.



شكل٥(٢)١: عملية الكبس أثناء إنتاج السيلاج

٤- فإذا كانت المادة عالية الرطوبة يضاف إليها مادة خشنة لامتصاص الرطوبة ومعادلة نسبتها (حطب ذرة أو تبن البرسيم بنسبة ١:٦) أي ٥ كجم حطب لكل ٣٠ كجم برسيم.

٥- يتم فتح الكومة بعد ٥ أسابيع وهو الحد الذي تكون فيه الميكروبات المفيدة قد وصلت إلي أعلي درجة من النشاط وأنتجت كمية كافية من الأحماض لحفظ المادة النباتية المستخدمة وبذلك يكون السيلاج قد نضج ويمكن التغذية عليه، ويراعي أن تكون الفتحة التي يؤخذ منها السيلاج صغيرة لتسمح بإخراج السيلاج وعدم دخول الهواء بكميات كبيرة علي أن تغلق جيداً بعد أخذ المطلوب وتغطي بالتراب أو الرمل مرة أخري، ويراعي عند أخذ السيلاج من الحفرة أن يتم بطريقة التقطيع من أعلي إلي أسفل.

٦- يلاحظ أنه يجب أن تكون الكمية المأخوذة تكفي لحاجة حيوانات المزرعة طوال اليوم وأن يتم أخذ الكميات بسرعة حتى لا تتعرض الكومة للهواء فترات طويلة.

٧-عند بدء التغذية علي السيلاج يتم ذلك بصورة تدريجية أى بمعدل ٢٠٠ جم للأغنام والماعز، ٢ كجم للحيوانات الكبيرة في اليوم ثم تزيد تدريجياً إلي المعدلات المطلوبة في خلال الأسبوع الأول من التغذية.

٨- يراعي عند تغذية الحيوانات المجترة علي السيلاج أن لا تزيد كمية السيلاج للحيوان يومياً عن ١كجم بالنسبة للأغنام والماعز و٩ كجم للأبقار البلدي و١٢ كجم للأبقار الأجنبية و١٥ كجم للجاموس بجانب تقديم العلف المركز على حسب الغرض من تربية الحيوان بمعنى هل الغرض إنتاج لبن أم لحم.

٩- لاحظ أن القيمة الغذائية الموجودة في واحد طن سيلاج تعادل القيمة الغذائية في ٢٥٠ كجم علف مركز (معامل الاستبدال ١: ٤).

ثانيا: سيلاج بنجر العلف Silage production from fodder beat

لإمكانية إخلاء الأرض لزراعتها بمحصول أخر ولكون بنجر العلف سريع التعرض للتلف عند التخزين فإن حفظه بالسيلجة هو أسلوب جيد، حيث يستخدم أسلوب الحفظ إما في حفر أو بناء عند مستوي سطح الأرض حيث يتم إتباع الخطوات التالية:

١- يتم فصل العروش عن الجذور.

٢-يترك البنجر لمدة ١-٢ أسبوع علي فرشة سميكة من المواد الخشنة (تبن -حطب - قش) حتي لا يتلوث بالتراب ولامتصاص العصارة الناتجة علي أن يكون المكان جيد التهوية مظلل ويتم تركها إلي أن تصل نسبة الرطوبة إلي ٨٠ ٪ (٢٠ ٪ مادة جافة) .

٣-يقطع البنجر بماكينة خاصة ويخلط البنجر المقطع بتبن قمح أو فول أو حطب ذرة أو قوالح مفرومة بواقع ١٠٠ -١٥٠ كجم / طن بنجر وذلك بغرض زيادة نسبة المادة الجافة ولكي تتشرب العصارة الناتجة من البنجر.

٤- يمكن لزيادة نسبة البروتين في السيلاج إضافة اليوريا بواقع ٥ كجم / طن بنجر علي أن تذاب في كمية من الماء ويرش المحلول علي البنجر المقطع.

٥- نظراً لسرعة تخمر سكريات البنجر يجب الإسراع بإنهاء مليء وتغطية الكومة بالبلاستيك ثم بطبقة جيدة من التراب ثم تكبس جيداً.

٦- يتم عمل ٢-٣ فتحة في كل جدار من جدران الكومة تفتح عند اللزوم لتصريف العصير الزائد عند زيادة نسبة الرطوبة عن الحد المناسب علي أن يتم غلق تلك الفتحات بعد تمام الصرف لهذا العصير.

التغذية Nutrition

١- يتم التغذية بعد تمام عملية السيلجة أي بعد خمسة أسابيع مع تنفيذ نفس الاحتياطات المذكورة سابقاً عند التغذية علي السيلاج.

٢ - ينصح في حالة تغذية الحيوانات الحلابة ألا يخزن السيلاج في حظيرة الحيوانات وأن تتم التغذية عليه بعد الحليب وليس قبله (٦-٨ ساعة قبل الحليب) حتي لا تظهر رائحة السيلاج في اللبن.

٣- وجوب تهوية الحظيرة , ونقل اللبن فور الحلب بعيداً عن الحظيرة.

٤- لا يقدم لعجول عمرها أقل من ٤ شهور.

٥- يفضل إضافة بيكربونات الصوديوم في العلائق لمعادلة الحموضة الزائدة.

٧- الكميات المقترحة تكون ٢٠-٢٥ كجم / رأس / يوم لحيوان اللبن، ٥ كجم / رأس / يوم لعجول وعجلات عمر ٥-٦ شهور، ٤كجم / ١٠٠ كجم وزن حي لعجول وعجلات كبيرة.

ثالثا: سيلاج عيدان الذرة الرفيعة Silage production from sorghum

إن مساحات الذرة المنزرعة في مصر سنوياً حوالي ٢ مليون فدان وقد أنتجت سلالات جديدة من الذرة يحدث بها نضج الحبوب ومازالت عيدانها خضراء، وهذه تعتبر ثروة غذائية يمكن الاستفادة منها لحفظها في صورة سيلاج ، حيث يتم تقطيع العيدان الخضراء بعد حصاد الكيزان وتترك قليلاً لتذبل ليصل بها نسبة الرطوبة إلي الدرجة المثالية لعمل السيلاج (٧٠-٦٥ ٪) أي تحتوي علي مادة جافة من ٣٠-٣٥ ٪، حيث يتم عمل فرشة من مادة خشنة (تبن- حطب - قش) ثم يضاف فوقها عيدان الذرة الخضراء مقطعة ثم يتم الكبس وتغطي جيداً لضمان جودة التخمر، ولرفع
القيمة الغذائية للسيلاج يمكن إضافة مواد كربوهيدراتية مثل المولاس بنسبة ١-٢ ٪ وفي حالة الاحتياج إلي رفع نسبة بروتين السيلاج يمكن إضافة اليوريا بنسبة ٠.٥-١ ٪.

رابعا: سيلاج الذرة الشامية Silage production from crone

في حالة زيادة مساحات الذرة المنزرعة في مكان ما ولكون حبوب الذرة تحتوي علي نسبة جيدة من المواد الكربوهيدراتية الصالحة للتخمرFermentable فإنه في هذه الحالة يمكن سيلجة نبات الذرة كاملاً حيث أنه يعتبر من أفضل المحاصيل المناسبة للحفظ في صورة سيلاج خاصة وإنه نبات يعطي كمية كبيرة من العلف الأخضر. والعامل المؤثر في نجاح السيلجة لنبات الذرة هو أن يكون الذرة في المرحلة المناسبة من النضج، حيث يترك النبات حتي طور النضج اللبنى، ويجب أن يتم الحصاد سريعاً خلال هذه الفترة حيث أن نسبة المادة الجافة في نبات الذرة تكون من ٣٠-٣٥ ٪ (رطوبة٦٥-٧٠ ٪) وهي النسبة المثالية لعمل السيلاج، حيث يتم عمل السيلاج بنفس الوسائل

السابق ذكرها بأن يتم فرش طبقة من مادة خشنة لإمتصاص أي عصارات ثم تقطع عيدان الذرة بالكيزان وترص فوق طبقة المادة الخشنة وتكبس جيداً ثم تغطي جيداً.

ويجب أخذ الأتي فى الاعتبار عند عمل السيلاج من الذرة:

١-إذا تم تصنيع السيلاج من ذرة غير ناضجة قبل تكوين الحبوب (تحتوي علي ٢٠-٣٥ ٪ كربوهيدرات ذائبة كالسكريات) فإن هذه الكربوهيدرات الذائبة تتخمر بسرعة كبيرة منتجة حمض اللاكتيك ووجد أن ٧٥-٨٠ ٪ من هذا الحمض تكون في صورة (D) و٢٠-٢٥ ٪ تكون في صورة (L) والمعروف أن الصورة (D) لحمض اللاكتيك تعتبر سامة للمجترات Ruminantsعند استهلاكها بصورة كبيرة أو إذا أضيفت إلي علائق الحيوانات بصورة سريعة وبدون تدرج.

٢- إذا استهلكت الحيوانات كمية كبيرة من سيلاج الذرة الغير ناضجة (عالي الرطوبة) فإنها سوف تعاني من ارتفاع الحموضة بالكرش وإنتاج حمض اللاكتيك أيضاً بسرعة كبيرة في الكرش بفعل الميكروفلورا مما يسبب امتناع الحيوانات عن تناول الغذاء مع حدوث اضطرابات بالكرش.

٣-سيلاج الذرة غير الناضج والعالي الرطوبة يحدث له تحلل لنسبة كبيرة من محتوي البروتين إلي نيتروجين غير بروتيني يستهلك بكفاءة ضعيفة من قبل الحيوان.

٤-بما أن نسبة رطوبة سيلاج الذرة الغير ناضج عالية مع انخفاض نسبة المادة الجافة فإن هذا النوع من السيلاج يكون سائلاً بدرجة كبيرة مما يؤدي إلي فقد كميات كبيرة من الطاقة في صورة عناصر غذائية في السوائل المتسربة عند ضغط السيلاج.

٥-أما في حالة زيادة نضج الذرة أكثر من اللازم تقل نسبة الرطوبة مما لا يتيح حفظها بصورة جيدة كسيلاج ، كما أن التخمر الهوائي الذي يتم بواسطة الخمائر والفطريات (أكسدة الكربوهيدرات إلي ثاني أكسيد الكربون والماء) تزداد بصورة كبيرة مما يؤدي إلي الفقد الشديد في الطاقة والبروتين لذا يجب في هذه الحالة استخدام التقطيع الدقيق والتخزين الجيدGood storage لمنع الفساد بتقليل كمية الهواء بالسيلو.

٦-إذا ارتفعت المادة الجافة لنبات الذرة عن٤٠ ٪ فإنه يزداد الفقد في الأوراق ويصبح الحفظ أقل جودة Lower quality.

٧-سيلاج الذرة يحتوي في المتوسط علي ٨.٣ ٪ بروتين خام (المدي من ٦.٥-١٤ ٪) لذا يمكن زيادة نسبة البروتين الخام إلي ١٢ ٪عن طريق إضافة النيتروجين غير البروتيني مثل اليوريا والأمونيا وارتفاع نسبة البروتين الخام فى هذا النوع من السيلاج مفيد لحيوانات اللبن عالية الإدرار ولحيوانات اللحم وعامة يقدم للحيوانات المقررات السابق ذكرها مع وجود الأعلاف المركزة والمواد الخشنة.



شكل٥(٢)٢: إنتاج السيلاج من الذرة الشامية

سادسا: سيلاج عروش بنجر السكر Silage production from sugar beat

إن التوسع في زراعة نبات بنجر السكر لإنتاج السكر ولكون الجزء المستفاد منه في هذا النبات هو الدرنات فإنه يتبقي العروش الخضراء وبكميات كبيرة في فترة زمنية محددة لذا يمكن حفظها بالسليجة حيث يتم تجفيف هذه العروش بعد فصلها عن درناتها لتصل نسبة رطوبتها إلي ٦٥-٧٠ ٪ حيث يتم وضع فرشة من مادة خشنة توضع عليها العروش وتكبس ثم تغطي جيداً، ويمكن كما سبق القول إضافة المولاس بنسبة ١-٢ ٪ لتحسين وإسراع عملية التخمر وإضافة اليوريا بنسبة ٠.٥-١ ٪ من المادة الجافة (الطن يوجد به ٣٠٠ كجم مادة جافة تحتاج إلي ١.٥-٣ كجم يوريا) لزيادة نسبة البروتين الخام في السيلاج الناتج.

دور الكائنات الحية الدقيقة فى تـعطين نباتات الألياف

Role of microorganisms in retting of fiber plants

التعطين هو عملية بيولوجية حيث تقوم مجموعة من الميكروبات بتحليل البكتين المتواجد في النباتات عن طريق إفراز الإنزيمات المحللة للمواد البكتينية، وترجع أهمية التعطين إلي صعوبة استخراج ألياف السيليولوز الملتحمة مع بعضها بواسطة المواد البكتينية بالطرق الميكانيكية Mechanical methods مما يؤثر على الجودة النهائية للألياف وبالتالى رداءة المنسوجات المصنوعة منها ولذلك نلجأ للطرق البيولوجية بواسطة الميكروبات.

مصادر الألياف Source of fibres

١- وبر البذور كالقطن. ٢- اللحاء مثل سيقان نبات الكتان والتيل والقنب.

٣- الأوراق كالسيزال وجوز الهند.

والألياف هى المادة الخام التى تصنع منها المنسوجات والاقمشة والحبال والأغطية وغيرها من الاستعمالات المختلفة. ويعتبر تعطين الكتان والتيل والقنب من العمليات البكتريولوجية ذات الأهمية الاقتصادية، حيث تستخدم الألياف الموجودة فى سيقان نبات الكتان فى صناعة المنسوجات والخيوط أما ألياف القنب فتستخدم فى صناعة الحبال ويجب مراعاة مايلى عند التعطين:

ا- نزع الثمار مع استبعاد النباتات الضعيفة غير الجيدة.

ب- تجميع النباتات ذات الأطوال المتقاربة مع بعضها ويعمل منها حزم تعرف بالقبضات وتخزن إلى أن يحين تعطينها.

تعطين نباتات الكتان

يتميز الكتان بطول سيقانه التي قد تصل إلى متر ويتم تجميعها عقب سقوط الأزهار ثم تجهز السيقان وتجرى عليها عملية التعطين.

طرق التعطين Retting methods

أولاً: الطريقة اللاهوائية Anaerobic method

وتتم بنقع الكتان فى ماء جارى أو راكد وفى هذه الطريقة يتم التعطين أساسا بواسطة البكتريا وتتم على ثلاث مراحل.

المرحلة الطبيعية Physical stage

فى هذه المرحلة تمتص السيقان الماء فتنتفخ وتخرج المواد القابلة للذوبان وتشمل هذه المواد السكريات والجيلوكوسيدات والتانينات والمواد النيتروجينية. وبذلك يصبح الوسط بيئة ملائمة لنمو البكتريا وغيرها من الكائنات الحية الدقيقة.

المرحلة البيولوجية Biological stage

فيها تنشط الميكروبات الهوائية مستهلكة الأكسجين ويتحول الوسط إلى لاهوائى وتنشط بعد ذلك الميكروبات اللاهوائية مثل*Clostridium pectinovorum &*

Cl felsineum مفرزة إنزيم البكتينيز ويتحلل البكتين ويكون الناتج أحماض عضوية مثل الخليك والبيوتيريك وغازات مثل ثانى أكسيد الكربون- الهيدروجين-الميثان وكبرتيد الهيدروجين ، ويراعى عدم إطالة فترة التعطين حتى لا يتحلل السيليولوز بفعل البكتريا. هذا وقد يستخدم بادئ من الميكروبات السابقة المنمي على شرائح البطاطس لزيادة كفاءة التعطين مع مراعاة إضافة هذا البادئ فى الطور اللوغاريتمى.

المرحلة الميكانيكية Mechanical stage

وفى هذه المرحلة يتم ما يلي:

أ-تغسل النباتات جيداً بالماء لإزالة الروائح والمواد العالقة من بقايا النباتات والأحماض العضوية وغيرها من المواد الأخرى وقد يضاف مادة قلوية مثل هيدروكسيد الصوديوم لمعادلة الأحماض المتكونة من المرحلة السابقة.

ب-تجفف الألياف فى الشمس أو بالطرق الصناعية.

ج-تفصل الألياف بالطرق الميكانيكية عن الخشب والقشرة (الساس) ويستعمل الساس فى صناعة الخشب الحبيبى.

وتعتبر درجة الحرارة المثلى للتعطين٢٦-٢٨ ْم أو ٣٠-٣٢ ْم والارتفاع عن هذه الدرجة ينشط الميكروبات ويسرع من التعطين حيث أن هذه الدرجة المرتفعة تشجع نمو البكتريا ، الأمر الذى يؤدى إلى قصر فترة التعطين وفي مثل هذه الظروف نجد أن الألياف الناتجة تكون قليلة الجودة، ومن طرق التعطين اللاهوائى طريقة كاربون **Carbone retting process** يستعمل فيها بادئ من *Cl. felsineum* بنسبة ١ :١٠ من وزن النبات الجاف ودرجة حرارة التعطين ٣٧- ٣٨ ْم وهى الدرجة المثلى للميكروب وفترة التعطين ٥٠ ساعة، والألياف الناتجة من هذه الطريقة عالية الجودة وذات لون لامع وهذه الطريقة تعطى نسبة عالية وألياف جيدة.

ثانياً: الطرق الهوائية Aerobic method ومنها:

أ- طريقة Rossi

وفيها يتم إضافة ميكروب *Bacillus comessii* إلى سيقان النباتات المغمورة بالماء فى أحواض خاصة علي درجة حرارة ٢٨-٣٠ ْم مع استمرار التهوية وتتميز هذه الطريقة بالأتى:

- قلة احتمال زيادة التعطين مما يمنع تحلل السيليولوز.
- تنتج كمية أحماض عضوية قليلة.

ب- طريقة التعطين بالندى **Dew retting**

وفيها تنشر السيقان المراد تعطينها فى طبقات رقيقة على سطح الأرض وبذلك تتعرض لتأثير الشمس والندى والمطر وتلعب الفطريات الدور الأساسى فى التعطين بجانب البكتريا الهوائية.

وتتوقف جودة الألياف فى هذه الطريقة على الطقس والمكان المفروش علية السيقان وكذلك التربة.

وتتميز هذه الطريقة بأنها بسيطة ورخيصة. بينما من عيوبها أنها تعطى تصافى قليلة وألياف ردیئة.

ومن أهم الميكروبات المسئولة عن التعطين مايلي:

Bacillus licheniformis, Cl. felsineum , Cl. pectinovorum

تعطين نباتات الجوت (القنب)

يحصد النبات وهو فى طور الإثمار ثم تخلص السيقان من الأوراق والثمار ثم تعطن السيقان فى ماء بطئ التيار ويتم التعطين فى خلال عدة أيام ثم تفصل الألياف بالأيدي ويصنع منها الحقائب والزكائب.

تعطين نباتات التيل

يحصد النبات بعد الإزهار وينقع فى مياه جارية لمدة ١٥-٢٠ يوماً أثناء الصيف حيث تزال نواتج تخمر المواد الكربوهيدراتية أول بأول، وتلعب الميكروبات اللاهوائية الاختيارية دور رئيسى فى تعطين نباتات الألياف مثل ***Cl. roseum ,Cl. pectinovorum Cl. felsineum , Bacillus licheniformis .***

تعطين جوز الهند

توجد الألياف بين البذرة والقشرة لثمار جوز الهند وتفصل الألياف بواسطة سكين ثم تنقع فى ماء جارى لمدة ٦ أسابيع ثم تفصل الألياف وتكون قوية ومتينة ذات لون بنى محمر وتستعمل فى صناعة الحصر والسجاد.

تعطين نباتات السيزال (نوع من أنواع الصبار)

تجمع أوراق السيزال بقطعها من القاعدة بواسطة سكين قوية وتؤخذ الألياف منها بالفصل الميكانيكى وتتميز بالمتانة العالية واللمعان لوجود بلورات من أكسالات الكالسيوم إلا أنها سريعة العطب بفعل الماء، وتستعمل ألياف هذا النبات فى عمل الحبال.

إنتاج فطريات عيش الغراب Production of mushroom fungi

لقد عرف قدماء المصريين استخدام فطريات عيش الغراب كغذاء ودواء منذ أكثر من ٧ ألاف سنة، وبالرغم من أن زراعة فطريات عيش الغراب تعتبر عملية بسيطة جداً كما هو الحال فى زراعة عيش غراب القش *Volvariella volvacea* المنتشر فى دول جنوب شرق أسيا، نجد أن زراعة فطر عيش الغراب من النوع *Agaricus* sp تحتاج إلى إمكانيات كبيرة ومهارة وخبرة عالية وظروف مناخية غير متوفرة فى مصر وغيرها من الدول النامية.

ومن الأهداف الواجب مراعاتها عند زراعة وإنتاج فطريات عيش الغراب محاولة زيادة المحصول وتقصير الفترة بين التلقيح وبداية الإثمار والحصول على أكبر عدد من القطفات خلال موسم الإنتاج Production season.

وتعتبر فطريات عيش الغراب أحد مصادر غذاء الإنسان منذ وجوده على سطح كوكب الأرض، حيث يعتبر من أحد المصادر الهامة للبروتين النباتى ، وفى الوقت الذى يمكن فيه إنتاج ٣٥ كجم بروتين حيوانى /فدان/سنة و ٣٠٠ كجم بروتين من الأسماك /فدان/ سنة ، فإنه يمكن إنتاج ٣٠٠٠٠ كجم بروتين من فطريات عيش الغراب /فدان/ سنة. وفي هذه المرحلة الحاسمة التي يمر بها العالم أجمع بصفة عامة والدول النامية بصفة خاصة لمواجهة مشكلة الغذاء، حيث تزداد فيها حجم الفجوة الغذائية بسبب الزيادة السكانية فقد أصبح الغذاء عنصر ضغط سياسي أمام طموح وأمال معظم الدول النامية، حيث أصبحت الدول الغنية والأكثر تقدما هي المنتجة والمصدرة للغذاء بينما الدول النامية الفقيرة والتي في أشد الحاجة إليه هي المستوردة له ، ولما كان الغذاء يحتل هذه المكانة العظيمة فقد كان من الطبيعي تنوع سبل البحث والتعامل معه لإنتاجه زراعيا وحيوانيا وصناعيا والعمل علي حفظه وانتشاره ، لذا عكف الباحثون في مجالات الزراعة والغذاء علي إيجاد مصادر جديدة وغير تقليدية لإنتاج الغذاء وتوفيره خاصة إنتاج البروتين. وفي أوربا ظهرت الحاجة لإيجاد مصادر غذائية جديدة خلال الحرب العالمية الثانية فكان إنتاج البروتين الميكروبي Microbial protein وخاصة البروتين الفطري (بروتين المشروم)،وعيش الغراب هو فطر يستخدم في الغذاء منذ قدماء المصريين وقد أطلق عليه أسماء كثيرة في مواطن تجميعه أو إنتاجه (غذاء الملوك – غذاء النبلاء) وهو يزرع في المناطق المعتدلة من العالم وأصبح الأن يزرع في جميع الدول المتقدمة ومعظم الدول النامية وخاصة دول الشرق الأقصى وتعتبر الولايات المتحدة من أكبر الدول المنتجة له (٣٥٠ ألف طن / سنة) ثم فرنسا وهولندا وانجلترا وايطاليا ثم الصين واليابان وكوريا، ويعتبر عيش الغراب من المحاصيل البستانية الهامة التي يزداد الطلب العالمي عليها وأصبح الإنتاج العالمي منه يزيد علي ٤ مليون طن سنويا وحجم التعامل التجاري فيه أكثر من ١٥ مليار دولار.

وفطريات عيش الغراب تتبع الفطريات البازيدية والتي تتميز بتكوين أجسام ثمرية تستخدم كغذاء حيث يتكون عيش الغراب من ٩٢٪ رطوبة ، ٣-٤ ٪ بروتين ، ٥-٧ ٪ كربوهيدرات ، ١-٢ ٪ أملاح معدنية وكذلك يوجد به بعض الفيتامينات مثل فيتامين C والنياسين.

وتقسم فطريات عيش الغراب إلي:

أ- أنواع غير سامة Nontoxic species مثل:

-*Agaricus campestris*

وهو منتشر في معظم بلدان العالم وله طعم جيد ولكن هذا النوع يحتاج إلي تكنولوجيا عالية لإنتاجه.

-*Pleurotus sp.*

وهذا النوع يجود إنتاجه في مصر ويتميز بسهولة زراعته وقلة تكاليف إنتاجه.

-*Volvariella sp.*

وهذا النوع ينتشر بكثرة في معظم دول جنوب شرق أسيا ويجود إنتاجه في مصر.

ب- أنواع سامة Toxic species مثل فطر *Amanita phaloides* ومن الصعب التمييز بين الأنواع السامة والغير سامة وتفرز الفطريات السامة نوعين من التوكسينات هما Phallotoxin & Amatoxin ويظهر تأثير الـ Phallotoxin علي الشخص بعد ٦-١٠ ساعات أما تأثير الـ Amatoxin فيظهر بعد ١٥ ساعة من تناول الفطر ، وتوكسينات هذه الفطريات تؤدي إلي تحلل خلايا الكبد وتظهر أعراض القئ والإسهال مع ظهور دم ومخاط في البراز وقد تؤدي هذه التوكسينات إلي الموت.

القيمة الغذائية لفطريات عيش الغراب Nutritional value of mushroom

تعتبر فطريات عيش الغراب من الأغذية عالية القيمة الغذائية لارتفاع محتواه من البروتين والفيتامينات والأملاح المعدنية خاصة أملاح الفوسفور والبوتاسيوم والكالسيوم والماغنسيوم والصوديوم والحديد هذا بالإضافة إلي محتواه من الأحماض الأمينية.

محتوى فطريات عيش الغراب من البروتين Mushroom content of protein

فطريات عيش الغراب كغذاء بروتينى يقع فى مرحلة وسط بين اللحوم والخضروات ، وهو غذاء جيد يوصى به لمرضى القلب والسكر والسمنة ، وتبلغ نسبة البروتين بفطريات عيش الغراب ٣-٤٪ على أساس الوزن الرطب و٣٠-٥٠٪ على أساس الوزن الجاف ،وهذه النسبة تعادل ضعف نسبة البروتين فى بعض أنواع الخضروات، كما تتفوق على نسبة البروتين فى البقوليات ويتميز بروتين فطريات عيش الغراب باحتوائه على كل الأحماض الأمينية الأساسية Essential amino

acids ولذلك فهو يعتبر بروتين كامل ،وتبلغ نسبة هضم بروتين فطريات عيش الغراب ٧٢- ٨٧٪ وهى نسبة عالية بالنسبة لأنواع البروتين الأخرى.

محتوى فطريات عيش الغراب من الفيتامينات Mushroom content of vitamins

تحتوى فطريات عيش الغراب على كميات مرتفعة نسبياً من الفيتامينات وخصوصاً الفيتامينات التى تذوب فى الماء، ومن أمثلة هذه الفيتامينات الريبوفلافين وحمض النيكوتنيك والثيامين وحمض الفوليك وحمض الأسكوربيك.

محتوى فطريات عيش الغراب من الأملاح المعدنية

Mushroom content of mineral salts

تحتوى ثمار فطريات عيش الغراب على كميات من الأملاح المعدنية تبلغ تقريباً ضعف الموجودة فى اللحم البقرى واللبن الحليب، وتعتبر فطريات عيش الغراب مصدر لعناصر الفوسفور والبوتاسيوم والكالسيوم والماغنسيوم والصوديوم والحديد، وبصفة عامة فإن التغذية على فطريات عيش الغراب تعمل على تنشيط العمليات الحيوية المختلفة بالجسم.

محتوى فطريات عيش الغراب من الكربوهيدرات والدهون

Mushroom content of carbohydrates and fats

تحتوى ثمار فطريات عيش الغراب على كميات منخفضة من الكربوهيدرات معظمها عبارة عن سكر المانيتول وبعض السكريات الأحادية والثنائية، كما تحتوى ثمار فطريات عيش الغراب على كميات منخفضة من الدهون لا تتعدى ١٪ ولذلك فإن تناوله لا يؤدى إلى زيادة الكوليسترول.

محتوى فطريات عيش الغراب من الإنزيمات والألياف

Mushroom content of enzymes and fibers

تحتوي ثمار فطريات عيش الغراب على بعض الإنزيمات الهاضمة مثل إنزيم التربسين الذي ينشط تفاعلات هضم الأغذية البروتينية، كما تتميز ثمار فطريات عيش الغراب بخلوها من الألياف الغير قابلة للهضم.

ويوجد العديد من أنواع فطريات عيش الغراب في العالم والتي تنتج بصورة برية ولكن هناك حوالي ١٥ نوع لهم صفة الانتشار الكبير في جميع دول العالم وفي مصر يستخدم ثلاثة أنواع من فطريات عيش الغراب في الزراعة وهو الأجاريكس ويزرع في حوالي خمسة مزارع كبيرة تتركز في الشرقية والغربية والنوع الثاني هو المشروم المحاري، وهو يتميز بسهولة إنتاجه ولا يحتاج إلي رأس مال كبير كما أنه لا يحتاج إلي درجات حرارة منخفضة فهو مناسب للمناخ الدافئ والنوع الثالث يعرف باسم النوع الصيني وهو تجود زراعته في الجو الحار.

ويعتبر مشروع إنتاج فطريات عيش الغراب من المشروعات الهامة والاستثمارية الناجحة وخاصة مشروعات التكثيف الزراعي إذ يبلغ إنتاج المتر المربع من ١٥-٢٠ كجم مما يجعله من أعلي معدلات الإنتاج ويضمن دخلا مناسبا سواء للشباب أو المستثمرين مع إيجاد فرص عمل جيدة أو الحد من مشكلة البطالة هذا بالإضافة إلي مساهمته في الحد من الفجوة الغذائية خاصة المتعلقة بالبروتين الحيواني، وإقامة مثل هذا المشروع يساهم أيضا في الحد من مشكلة التلوث خاصة في الريف المصري وذلك عن طريق استخدام المخلفات الزراعية بالمشروع وبأسلوب صحيح مما يزد من المردود الاقتصادي **Economical return** للاستثمار في هذا المجال بالإضافة إلي الحد من الأضرار التي تنتج من انتشار الأفات والقوارض نتيجة للتخلص من المخلفات بطرق سيئة.

متطلبات إنتاج فطريات عيش الغراب

Requirements of mushroom production

- قش الأرز.
- تقاوي فطريات عيش الغراب.
- مبيدات فطرية ومطهرات.
- أكياس بولي إيثلين غير منفذة للضوء.
- أطباق التعبئة من الفوم.
- ورق سيلوفان للتغليف.

زراعة وإنتاج فطر عيش الغراب المحارى

Cultivation and production of mushroom(*Pleurotus* sp.)

يعتبر هذا النوع من فطريات عيش الغراب التي شهدت قفزة سريعة في مستوي إنتاجه عالميا حيث أنه كان يمثل نسبة ٨٪ من الإنتاج العالمي عام ١٩٨٦م وقفز في عام ١٩٩٤م إلي أن أصبح يمثل نسبة ٢٥٪ من الإنتاج العالمي وتنتشر زراعة هذا النوع لسهولة وبساطة تكنولوجيا إنتاجه مقارنة بالأنواع الأخرى من فطريات عيش الغراب. هذا النوع من فطريات عيش الغراب المحارى والمعروف علمياً باسم البلوروتس قد انتشر سريعاً في مصر كأحد المشروعات الصغيرة للشباب وربات البيوت وصغار المستثمرين وتتم زراعته في الغرف المغلقة. وتتم زراعة فطريات عيش الغراب المحارى داخل ما يسمي بغرفة المشروم، هذه الغرفة يمكن أن تصنع من حديد الكريتال أو المواسير مع استخدام أغطية بلاستيكية أو غرف مصنعة من خشب الجريد أو من المباني المصنعة من الطوب والأسمنت وذلك حسب الإمكانيات المتاحة في البيئة المحيطة.

أولاً: تجهيز بيئة الزراعة Preparation of cultivation medium

يستخدم قش الأرز كمادة أساسية(بيئة غذائية) لزراعة فطريات البلوروتس حيث يتم تعبئة القش في أكياس أو سلة من البلاستيك المجدول ثم توضع في خزان من الصاج المجلفن (سعة ١م٣)، ويمكن استخدام البراميل سعة (٠.٢م٣) وينقع في ماء لمدة ساعتين ثم يتم التسخين لمدة ساعتين فى درجة الغليان Boiling وبعد ذلك ترفع العبوات وتترك حتى تبرد وتصفي نسبة كبيرة من الماء الزائد ثم تنشر علي المناشر وذلك لمدة ٢-٣ ساعات حتى تصل نسبة الرطوبة بالقش إلي٦٠٪.

ثانياً : التعبئة في أكياس البلاستيك

تعتبر هذه الطريقة من الطرق السهلة والرخيصة حيث تستخدم الأكياس البلاستيك السوداء غير المنفذة للضوء ذات حجم متوسط (حمولة ٣كيلو جرام)، يتم تعبئة القش في الأكياس بحيث يتم وضع طبقة منه بارتفاع ١٠سم وتبدر فوقها التقاوي Spawn (اللقاح الفطري) ثم توضع طبقة أخرى وبذر التقاوي وهكذا حتى يمتلئ الكيس بحيث تكون طبقة القش الأخيرة ذات سمك ٥سم ثم تقفل الأكياس وترص داخل غرفة المشروم علي الأرفف مع إظلام الغرفة لمدة تتراوح بين أسبوعين إلي ثلاث أسابيع علي أن تكون درجة حرارة الغرفة ٢٨-٣٠ °م حيث يسمح بنمو الميسليوم (النموات البيضاء).

ثالثاً: مرحلة الإثمار Fruiting period

يتم فتح الأكياس بعد ثلاث أسابيع من أعلي وفي هذه الحالة لابد من توافر الظروف التالية داخل غرفة المشروم:

- إضاءة كافية خفيفة.
- تهوية كافية.
- درجة رطوبة نسبية لا تقل عن ٨٠٪ ومراعاة عدم الإسراف في ذلك حيث يمكن توفير هذه الرطوبة عن طريق استخدام رشاش مياه لعمل رزاز من بخار الماء مع مراعاة عدم الإسراف وعدم سقوط مياه علي الأكياس وتراكمها مما يؤدى إلي تعفن ما بداخل الأكياس ويمكن ترطيب الأرضيات أو الجدران بالمياه.
- بعد فتح الأكياس ٣-٤ أيام يبدأ الإثمار وبعد ذلك بيومين تصبح الأجسام الثمرية جاهزة للحصاد حيث يتم قطف وتجميع الثمار (قطفة أولي) بعد ذلك يتم غلق الكيس من أعلي ثم يعكس وضع الكيس بحيث يصبح القاع قمة والقمة قاع وتفتح الأكياس من أعلي وبعد ٧أيام أخرى يتم قطف الثمار(قطفة ثانية) ويمكن الحصول علي قطفة ثالثة ورابعة من علي جوانب الأكياس.

- ولزيادة المنتج يمكن استخدام محلول اليوريا (١٠٠جرام يوريا تذاب في ١٠٠ لتر ماء) ويرش علي سطح الأكياس أثناء مرحلة الإثمار وذلك باستخدام الرشاش.

- وأثناء عملية الإثمار يجب ملاحظة شكل الثمار حيث إذا لوحظ أن الثمار الناتجة ذات ساق طويلة وثمرة صغيرة فإن هذا يعني أن عملية التهوية والإضاءة Illumination داخل غرف المشروم ضعيفة وهذه الصفات غير مرغوب فيها.

رابعاً: التعبئة والتغليف Packing and sheathing

يتم التعبئة في أطباق من مادة الفوم الأبيض ثم تغلف بطبقة من الورق السيلوفان الشفاف مع وضع بطاقة البيانات الخاصة بحفظ المنتج وتاريخ الإنتاج ومدة الصلاحية.

عناصر الجودة فى الإنتاج Quality items for production

-الدقة في شراء الأصناف الجيدة السليمة.
- نظافة مكان الإنتاج وخلوه من الحشرات.
- الدقة في عمليات الفرز والتنقية.
- المظهر الخارجي الجيد للعبوة وسلامتها.
- نظافة وصحة القائمين علي إعداد المنتجات وخلوهم من الأمراض.
- التخلص من الفرزه ومخلفات التصنيع حتى لا يتسبب عن تراكمها تلوث للبيئة. ويتم تسويق المنتجات عن طريق :

١-الأسواق القريبة من مكان المشروع.
٢-تجار الجملة والمحال التجارية.
٣-المشاركة في المعارض المتخصصة في المنتجات الزراعية والغذائية للمساهمة في سرعة انتشار وتوزيع المنتجات.

زراعة وإنتاج فطر عيش الغراب (الأجاريكس)

Cultivation and production of mushroom (*Agaricus* spp.)

من أهم الأنواع التى تنتمى إلى جنس ***Agaricus*** وتستخدم بكثرة على النطاق التجارى فى إنتاج المشروم ما يلى:

Agaricus bisporus* &*Agaricus campestris

يعتبر عيش الغراب الأجاريكس أكثر أنواع عيش الغراب شهرة وانتشاراً وهو يتميز بالقباعات الكروية التى تفتح عند النضج Maturity ويتراوح قطر القبعة من ٥ -١٥ سم والتى يميل لونها إلى الأبيض وقد يكون لونها بنياً فاتحاً أو أصفر، ويزرع هذا النوع من عيش الغراب على مادة

عضوية مجهزة (كمبوست) تتكون عادة من قش النجيليات المضاف إليها مواد عضوية نيتروجينية مثل روث الخيل أو زرق الدواجن أو أسمدة نيتروجينية مثل اليوريا أو كبريتات الأمونيوم أو نترات الأمونيوم ويتم تقليب هذه المكونات وترطيبها ثم تركها للتخمر حتى تتحرر العناصر الغذائية من مركباتها المعقدة Complex components بفعل الأحياء الدقيقة الموجودة بها وتصبح هذه العناصر متاحة لهيفات عيش الغراب بعد ذلك.

مكونات الكمبوست Compost components

- واحد طن قش أرز أو تبن قمح أو شعير–٨٠٠ كجم سبله خيل أو زرق دواجن –٦٠ كجم جبس زراعى –٥٠٠٠ لتر ماء.
- واحد طن قش أرز أو تبن قمح أو تبن شعير –١١٠ كجم زرق دواجن –٧٥ كجم مواد نيتروجينية – ١٥ كجم جبس زراعى–٤٥٠ لتر ماء .

ويمكن تلخيص خطوات زراعة وإنتاج عيش الغراب (الأجاريكس) فيما يلى:

١–تجهيز الكمبوست Compost preparation

يعتبر الكمبوست الجيد هو العامل المحدد لنجاح زراعة فطر عيش الغراب من النوع أجاريكس والحصول على محصول اقتصادي Economical yield من الثمار.

ويمكن عمل الكمبوست من جميع المخلفات النباتية مثل قش الأرز أو تبن القمح أو الشعير أو حطب القطن ويضاف إليها سبله الخيل أو زرق الدواجن والجبس الزراعى وتختلط جميعها ويرش الماء وترص على شكل كومة ويجب أن تكون الكومة بأبعاد ١.٥ م ارتفاع ، ١.٥ عرض ، ٢ متر طول على الأقل ، وتقلب الكومة كل أربعة أيام حيث تبلل بالماء ويعاد تكويمها مرة ثانية أى تقلب ٥ مرات فى خلال المدة من ١٨–٢١ يوم وفى أثناء هذه المرحلة يحدث أن ترتفع درجة الحرارة داخل الكومة إلى٧٠ م وفى نهاية المدة يتغير لون القش إلى اللون البنى الغامق ونسبة النيتروجين ١.٥– ١.٨ ٪، وتكون نسبة الرطوبة فى الكمبوست بين ٧٠ – ٧٢ ٪، ويمكن معرفة نسبة الرطوبة بعصر كمية من الكمبوست فى قبضة اليد فإذا تساقطت منه قطرات الماء دل ذلك على زيادة محتواه المائى وإذا بللت راحة اليد فقط دل ذلك على أن محتوى الكمبوست من الماء مناسب وفى حالة جفاف راحة اليد بعد الضغط فى الكمبوست دل ذلك على جفاف الكمبوست ولزم رش الكومة بالماء.

٢– البسترة Pasteurization

بعد ذلك تبدأ المرحلة الثانية من تجهيز الكمبوست حيث يعرض الكمبوست للبخار لمدة ٦ – ٧ أيام فى غرف خاصة للبخار الرطب بدرجة حرارة ٦٨–٧٠ °م ثم تقل تدريجياً حتى تصل

إلى اليوم السابع إلى ٢٥ ° م بغرض قتل الميكروبات الضارة والحشرات والنيماتودا التى قد تكون موجودة فى مكونات الكمبوست كما يتم التخلص من الأمونيا التى تسبب قتل هيفات فطر عيش الغراب المراد زراعته وفى خلال فترة البسترة يتم قتل البكتريا حتى تتحول خلاياها إلى نيتروجين عضوى يتحد مع مكونات الكمبوست مكونا معقداً من السليولوز واللجنين والبروتين العضوى والذى يكون المصدر الأساسيMain source لتغذية هيفات الفطر.

٣- تعبئة الكمبوست وإضافة التقاوى

بعد انتهاء المرحلة الثانية من إعداد الكمبوست تكون المادة العضوية المجهزة صالحة لزراعة عيش الغراب العادى فيها، ويتم تعبئة الكمبوست المجهز فى أكياس بولى إثيلين يسع الكيس١٠ كجم كمبوست ، يوضع أو يعبأ الكمبوست فى أرفف تتراص فوق بعضها على حامل معدنى بحيث يحتوى الحامل على خمسة أرفف بينهم مسافة كافية ويتم إضافة التقاوى بنسبة ١ ٪ إذا كانت التقاوى مستورده أو ٣ - ٥ ٪ إذا كانت تقاوى محلية. ويحتاج المتر المربع من الحوامل إلى٨٠-١٠٠ كجم كمبوست وهذا يتوقف على سمك طبقة الكمبوست ويتم نثر التقاوى على الكمبوست ويترك على درجة حرارة٢٤ درجة مئوى ورطوبة٧٠٪ وفى هذه المرحلة تنمو هيفات الفطر من التقاوى منتشرة خلال الكمبوست وذلك على شكل خيوط بيضاء اللون(هيفات الفطر) تتكاثف بعد فترة مكونة ميسليوم أبيض وقد يغطى سطح الكمبوست بورق أو رقائق بلاستيك تجنباً لجفاف سطح الكمبوست بعد زراعته ولحمايته من التلوث بالميكروبات الضارة.

٤-التغطية Covering

يتم تغطية الكمبوست بطبقة خاصة تسمى الطبقة السوداء وتتكون من خليط من تربة البيتموس والطمى والرمل والجير بنسبة ٤: ٢: ١: ١ وبطبقة سمكها من ٣ -٥ سم وتخفض درجة الحرارة أثناؤها إلى ١٦-١٨ درجه مئوية وتعمل طبقة التغطية على توفير ظروف مناسبة لهيفات الفطر حيث تنمو هذه الهيفات بصورة متجمعة مكونة خيوط سميكة بيضاء اللون وتنتج عن تجميع هذه الخيوط السميكة ثميرات صغيرة كرؤوس الدبابيس ولا تتكون التركيبات الفطرية السابقة إلا على طبقة التغطية.

٥-تكوين الثمار وقطف المحصول

تظهر ثميرات عيش الغراب على طبقة التغطية بعد حوالى٧ - ١٤ يوم من التغطية ثم تستكمل نموها حتى تصل إلى طور النضج الكامل وهو طور الثمار المقفولة حيث يتم تجميعها

فى هذه الحالة قبل تفتحها وذلك بعد ١٨ - ٢١ يوما من التغطية وبراعى خلال مرحلة الثمار ما يلى:

١- خفض نسبة ثانى أكسيد الكربون.

٢- التحكم فى نسبة الأكسجين / ثانى أكسيد الكربون فى هواء حجرة النمو.

٣-تجنب خفض الرطوبة الجوية داخل حجرات النمو عند التهوية.

٤- يجب الاحتراس عند رش الماء فى حجرات النمو وعلى الكمبوست الذى تنمو عليه ثمار عيش الغراب بحيث لا تبتل الثمار مما يجعلها قابلة للعدوى بميكروبات العفن.

يتم قطف ثمار عيش الغراب على عدة مراحل يطلق على كل مرحلة قطفة ويبلغ عدد القطفات ٣ -٥ مرات بين كل واحدة والأخرى ٧ -١٠ أيام ويتوقف ذلك على مرحلة تفتح الثمار وعلى نوع الفطر المنزرع ودرجة الحرارة ونسبة الرطوبة فى هواء المزرعة ويراعى أن تكون درجة الحرارة بداخل حجرات النمو بين ١٨- ٢٠ °م خلال مرحلة الإنتاج حتى يمكن الحصول على محصول مرتفع وثمار جيدة وتستقبل الثمار التى تم حصادها فى سلال بلاستيك ويتم تدريج الثمار ووزنها تمهيداً لبيعه.

الأهمية الاقتصادية لفطريات عيش الغراب

Economic importance of mushroom

١- تساهم عملية إنتاج فطريات عيش الغراب فى التخلص من تراكم بعض المخلفات الزراعية مثل قش الأرز.

٢- تعتبر فطريات عيش الغراب الغير سامة طعام **Food** شهى عالى القيمة الغذائية كما أوضحنا من قبل.

٣- تعتبر البيئة المتخلفة بعد الإنتاج مخصب عضوى**Organic fertilizer** جيد يمكن إضافته للتربة الزراعية لتسميد أشجار الفاكهة والخضروات ونباتات الزينة.

٤- يمكن استخدام البقايا المتخلفة عن الإنتاج بعد معاملتها حرارياً كعلف غير تقليدى غنى بالبروتين حيث يصلح لتغذية الماشية والأغنام وبعض الحيوانات الصغيرة مثل الأرانب.

٥- يستخلص من فطر عيش الغراب ذو القبعة الحبرية سائل أسود يستخدم فى أغراض الكتابة.

٦- تنتج فطريات عيش الغراب صبغات عديدة تستخدم فى صباغة الأقمشة القطنية والأصواف والحرير، كما تنتج بعض الصبغات التى تستخدم فى مجال الأغذية.

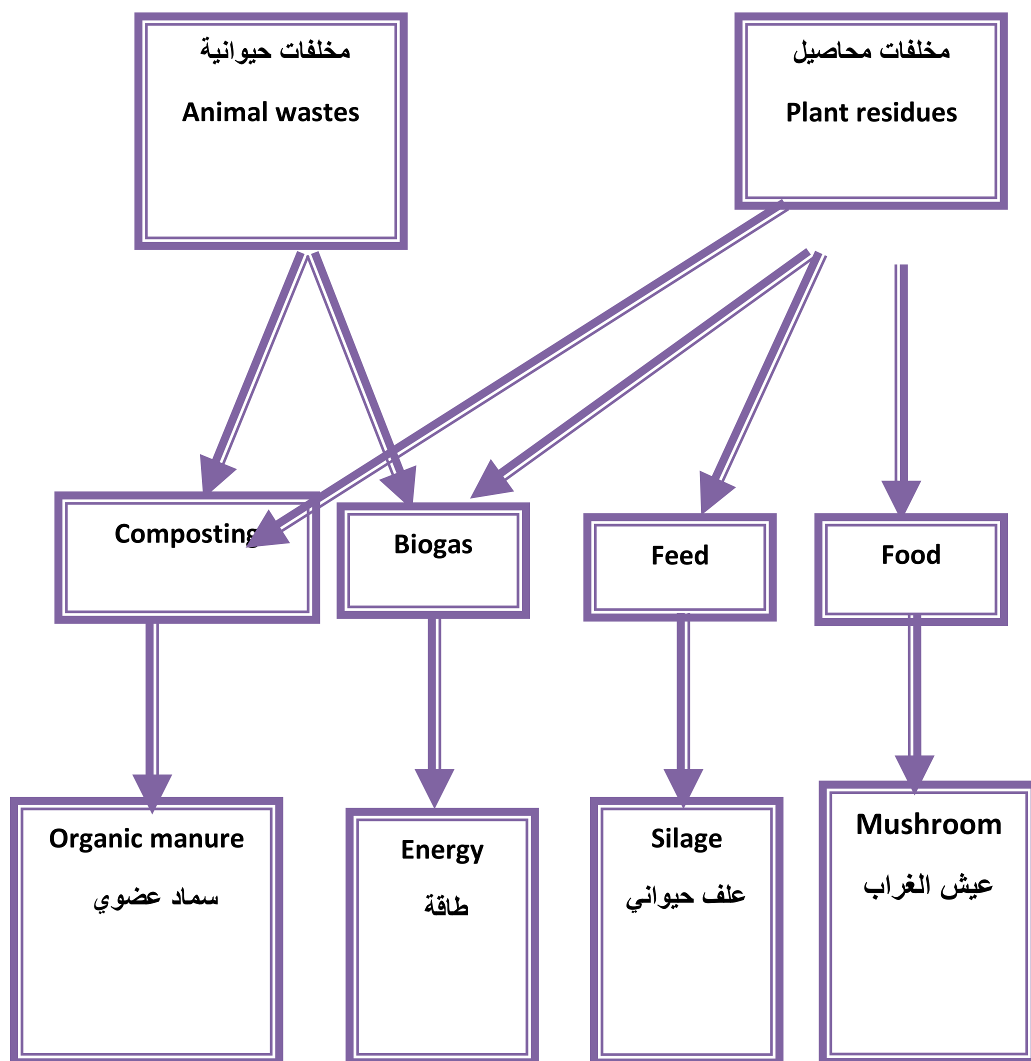
٧- يستخلص من بعض أنواع فطريات عيش الغراب مواد حيوية مضيئة **illuminant** تستخدم فى مجال الطب فى تحديد مقدار جرعة الإشعاع الغير ضارة للاستخدام فى العلاج وفى الكشف عن الملوثات البيئية.

٨- تستخدم بعض أنواع فطريات عيش الغراب فى صناعة القبعات **Caps** وحقائب اليد وبعض الروائح ومواد التجميل والصابون.

٩- تستخدم الأجسام الثمرية الجميلة لبعض أنواع فطريات عيش الغراب فى تزيين أصص الزهور **Flower pots**.

١٠- تستخدم بعض أنواع فطريات عيش الغراب فى إنتاج بعض الأدوية **Drugs** التى تستخدم فى علاج أمراض السكر وتصلب الشرايين وزيادة نسبة الكوليسترول ، أيضاً تستخدم بعض الأنواع فى إنتاج أدوية لعلاج الأورام **Tumors** وبعض أنواع السرطانات **Cancers**، وبصفة عامة فإن حوالى ثلث الأدوية المستخدمة فى علاج الأورام تنتج من فطريات عيش الغراب.

١١- تستخدم بعض أنواع فطريات عيش الغراب فى إحداث التجلط السريع للدم، كما يستخرج من بعض الأنواع عقار يستخدم فى علاج تضخمات الغدد**Glands swelling** وبعض الأمراض الفيروسية، حيث تعمل بعض العقاقير المستخلصة من بعض أنواع فطريات عيش الغراب فى تقوية جهاز المناعة **Immune system** مما قد يساعد مستقبلاً فى علاج مرض الإيدز.



شكل ٥ (٢) –٣: مخطط عام يوضح نواتج المعالجة البيولوجية للمخلفات العضوية

(الباب السادس-الفصل الأول)

التخمرات الميكروبية

Microbial fermentation

يقصد بالتخمرات الميكروبية استخدام الكائنات الحية الدقيقة تحت ظروف هوائية أو لاهوائية محكمة، لإنتاج مواد نافعة ذات قيمة اقتصادية على النطاق التجاري، وقد بدأت الأنظار تتجه إلي أهمية الدور الذي تلعبه الكائنات الحية الدقيقة لإنتاج هذه المواد منذ الدراسات التى بدأها العالم لويس باستير عن التخمرات في النصف الثاني من القرن التاسع عشر عندما استخدمت البكتريا لإنتاج الأسيتون والبيوتانول خلال الحرب العالمية الأولى. كذلك استخدمت الفطريات والأكتينوميسيتات لإنتاج المضادات الحيوية خلال الحرب العالمية الثانية ثم تلى ذلك تطور كبير فى مجال التخمرات الميكروبية أو ما يسمى بالصناعات التخميرية ، ويوجد اليوم العديد من المواد الكيماوية والحيوية التي تنتج عن طريق الصناعات التخميرية والكثير منها ذو أهمية طبية واقتصادية وتجارية Commercial كبيرة مثل إنتاج الكحولات والأحماض العضوية والأمينية والمضادات الحيوية والإنزيمات والفيتامينات والدكستران والبوليمرات. ومن وجهة النظر الصناعية فإن الميكروب عبارة عن مصنع كيميائى قادر على إحداث تغيرات مرغوب فيها فى الوسط الذي يعيش فيه، والميكروبات بما تفرزه من إنزيمات تؤثر على المواد الخام رخيصة الثمن والتى هى جزء من البيئة التى تنمو عليها وتحولها إلى نواتج ذات أهمية اقتصادية يتم فصلها والاستفادة منها.

أنواع المنتجات الميكروبية Types of microbial products

تقع المنتجات الميكروبية التي تنتج باستخدام تكنولوجيا الصناعات التخميرية تحت أقسام عديدة أهمها:

١- مواد وإضافات غذائية Materials and food additives

حيث تستخدم الكائنات الحية الدقيقة لإنتاج البروتين والأحماض العضوية والأمينية التى تستعمل كإضافات غذائية، وتضم الكائنات الحية الدقيقة من بكتريا وأكتينوميسيتات وفطريات وخمائر وطحالب علي العديد من الكائنات الحية الدقيقة التي استخدمت علي نطاق تجاري في الصناعات التخميرية المختلفة والتي تشمل الإنتاج الكمي للخلايا وهو إنتاج خلايا من ميكروبات غنية بالبروتين والذي يسمي بالبروتين وحيد الخلية Single cell protein أو البروتين الطحلبي والذي يستخدم كغذاء للإنسان أو كعلف للحيوان أو في إنتاج الليبيدات Single cell lipid أو في إنتاج فيتامينات مجموعه (B) المركبة أو إنتاج خميرة الخباز. كذلك إنتاج مواد ناتجة من التحولات الغذائية للميكروب سواء فى مرحلة الطور اللوغاريتمى ويطلق عليها Trophophase

أو فى مرحلة الطور الثابت ويطلق عليها Idiophase وذلك باستخدام المزارع ذات الدفعة الواحدة أو فى المزارع المستمرة.

٢- إنتاج الكحولات Alcohols production

يعتبر إنتاج الإيثانول والبيوتانول والجليسرول من أهم الكحولات التي تنتج بكثرة علي النطاق التجاري بواسطة الميكروبات.

٣- إنتاج الأحماض العضوية Organic acids مثل (الستريك والخليك واللاكتيك) والمذيبات العضوية (الأسيتون) والإنزيماتEnzymes (البروتينيز والأميليز والليبيز).

٤ - إنتاج بعض المواد الصيدلانية Pharmaceutical substances من أهم هذه المواد المضادات الحيوية ويجرى الأن إنتاج مواد اخرى مثل الإنسولين، والدكستران الذي يستخدم كبديل لبلازما الدم.

٥- إنتاج مواد بيولوجية Biological substances

ومن أهم هذه المواد الفاكسينات Vaccines، ومضادات السيرم Antiserum.

الاحتياجات اللازمة للصناعات التخميرية

Requirements for industrial fermentation

يعتمد نجاح الصناعات التخميرية على توفير بعض الاحتياجات ومنها:

١- السلالات الميكروبية Microbial strains

الميكروبات المستخدمة فى الإنتاج الصناعى كثيرة ومتعددة. وتعتبر هذه الكائنات الحية الدقيقة سلالات منتخبه من الفطريات والخمائر والبكتريا كما تستخدم الفيروسات على نطاق تجارى لإنتاج اللقاحات (الفاكسينات).

ومن الشروط الواجب توافرها فى الميكروب المستخدم في الصناعات التخميرية.

١-أن يكون قادر على إنتاج المادة المطلوبة بكمية كبيرة.

٢-أن يكون الميكروب ذو صفات وراثية ثابتة.

٣-أن يكون الميكروب ذو قدرة سريعة على النمو.

٤-أن يكون الميكروب غير ممرض.

٥-أن يكون الميكروب ذو كفاءة عالية فى تمثيل المادة الخام المستخدمة.

ويمكن الوصول إلي هذه الصفات بانتخاب السلالة المناسبة أو بإحداث الطفرات الملائمة أو حتى باستخدام التكنولوجيا المتقدمة للهندسة الوراثية.

ومما هو جدير بالذكر أن السلالة التي تم انتخابها يجب أن يحافظ على نشاطها ونقاوتها بالنقل على فترات إلي البيئة المناسبة مع التحضين حتى تصل المزرعة إلي الطور الثابت ثم التخزين على درجة حرارة منخفضة كافية لإيقاف النمو وعند الاستعمال يعاد تنشيط المزرعة، كما يحتفظ بنماذج من السلالة المنتخبة لمدد طويلة بالحفظ فى الثلاجة مع إضافة زيت برافين أو الحفظ بالتجفيد Lyophilization (التجفيف تحت تفريغ) لاستخدام تلك السلالات عند اللزوم وذلك لتقليل احتمال التغيرات التى تحدث مع تكرار نقل وتنمية هذه السلالات. ولأهمية السلالة الميكروبية فى الإنتاج فإن الكثير من المصانع تحتفظ لنفسها بالسلالة التى توصلت إليها وتعتبرها سراً من أسرارها الصناعية.

٢- البادئ (اللقاح) Starter (inoculum)

عادة ما يضاف البادئ إلي بيئة التخمير بنسبة ٥ -١٠ ٪ من حجم البيئة ونظرا لكبر حجم بيئة التخمير المستعملة فإن كميات كبيرة من اللقاح يجب أن تجهز باستمرار. ويتطلب توفير الكمية المطلوبة من اللقاح إجراء ٤ – ٥ مراحل من الإكثار بدءا من المزرعة الموجودة بأنبوبة الاختبار ويتم ذلك بالنقل المتكرر والتحضين تحت الظروف المناسبة إلي أن يصل حجم اللقاح إلي الكمية المطلوبة وتتطلب هذه العملية دقة كبيرة حيث ينتج لقاحا نشطا خاليا من التلوث وإلا حدثت خسائر كبيرة فى الإنتاج.

٣- المواد الخام المستخدمة Raw materials

المادة الخام المستخدمة بما فى ذلك المواد الأساسية التى تتميز السلالة الميكروبية المنتخبة بقدرتها العالية علي تمثيلها يفضل استخدامها في صورة مواد خام رخيصة الثمن سواء كانت صناعية أو زراعية، ومن أمثلة هذه المواد الأساسية التي تستخدم بكثرة في مجال الصناعات التخميرية مخلفات التصنيع الغذائي حيث تعتبر مخلفات التصنيع الغذائي ثروة قومية **National wealth** حيث يجب علي المشتغلين بعلوم الميكروبيولوجى والكيمياء الحيوية وضع أمثل الطرق لكيفية الاستفادة من هذه المخلفات بواسطة الطرق البيولوجية **Biological methods** المختلفة والعمل علي الحد من تراكم هذه المخلفات أو التخلص منها بطريقة غير سليمة مما يؤدى إلي الإضرار بالبيئة وصحة الإنسان.

ويجب التنويه إلي أنه يوجد العديد من مخلفات التصنيع التي تنتج سنويا بآلاف الأطنان حيث يمكن استخدام هذا الكم الهائل من المخلفات في إنتاج مواد ذات قيمة اقتصادية مثل:

١- استخدام بعض مخلفات التصنيع الغذائي في إنتاج الكحولات.

٢- استخدام بعض مخلفات التصنيع الغذائي في إنتاج الخل.

٣- استخدام بعض مخلفات التصنيع الغذائي في إنتاج الأحماض العضوية

٤- استخدام بعض مخلفات التصنيع الغذائي في إنتاج الأحماض الأمينية.
٥- استخدام بعض مخلفات التصنيع الغذائي في إنتاج البروتين الميكروبي
٦- استخدام بعض مخلفات التصنيع الغذائي في إنتاج الخميرة.
٧- استخدام الشرش الناتج من مخلفات مصانع الألبان فى إنتاج الكحول والبروتين الميكروبى.
٨ – استخدام سائل منقوع الذرة الذي ينتج من مخلفات صناعة النشا فى إنتاج الكحولات والأحماض العضوية.
٩- استخدام سائل السلفيت الذي ينتج من مخلفات مصانع الورق فى إنتاج الكحول الإيثيلى.
١٠- استخدام المواد السيليولوزية المعالجة فى إنتاج الوقود الحيوي.

ويفضل أن تكون البيئة المستعملة بيئة منتخبة **Selective** أو منتقاه لتكون أكثر ملائمة لنمو الميكروب عن غيره من الميكروبات المنافسة، كما فى حالة استعمال بيئة حمضية لتنمية الخميرة والفطريات، وفى بعض العمليات التخميرية قد تعقم البيئة أو تبستر قبل تلقيحها بالبادئ للتخلص من الميكروبات الملوثة، ومن الجدير بالذكر أن اختيار البيئة الملائمة للتخمير تعتبر من أهم العوامل اللازمة لنجاح عملية التخمر على المستوى الصناعي **Industrial scale**، ذلك لأن البيئة الغذائية المناسبة هى التى تمد الميكروبات بالمواد الغذائية اللازمة للنمو والطاقة وبناء الكتلة الخلوية وكذلك التخليق الحيوى **Biosynthesis** لنواتج التخمر.

الشروط الواجب توافرها في البيئة الغذائية

١- يجب أن تحتوي البيئة الغذائية على مصدر كربون مناسب للميكروب وللمادة المراد إنتاجها.
٢- يجب أن تحتوي على مصدر نيتروجين مناسب لنمو الميكروب.
٣- يجب أن يتوفر بها مصدر مناسب للطاقة.
٤- يجب أن تحتوي على مواد خام متوفرة ورخيصة الثمن.
٥- يجب أن تكون البيئة سهلة التعقيم.

وقد يتفاوت التركيب الخاص من تركيب بسيط إلى معقد تبعا لنوع الكائن الحى الدقيق وكذلك تبعاً لتخمره، حيث نجد أن الميكروبات ذاتية التغذية تحتاج إلى بيئات غذائية بسيطة التركيب كالأملاح والماء ومصدر للنيتروجين، حيث أنها قادرة على استيفاء احتياجاتها من الكربون من ثاني أكسيد الكربون الجوى أو من أملاح الكربونات. وعلى النقيض من ذلك نجد أن بعض الميكروبات الأخرى تحتاج إلى وجود أنواع عديدة من المواد الغذائية المصنعة البسيطة والمعقدة فى البيئة، وكذلك يجب أن يكون لها إمداد من الكربون العضوى للاستفادة منه في تخليق المادة الخلوية ولتحرير الطاقة الأيضية. وتقسم البيئات الغذائية البسيطة والمعقدة إلى بيئات تركيبية وبيئات طبيعية **Natural media** ، والبيئة التركيبية هى التى تكون جميع مكوناتها معروفة على

وجه التحديد ، وعادة لايعتبر تكوين الرغوة مشكلة فى البيئات التخليقية **Synthetic media** لكونها لا تحتوى على أى بروتين أو ببتيدات بجانب أن عملية استرجاع وتنقية نواتج التخمير بسيطة نسبيا فى مثل هذه البيئات وذلك لعدم وجود مركبات عضوية فى البيئة الغذائية.

وبالرغم من هذه المميزات فان البيئات التركيبة قليلة الاستخدام صناعيا نظرا لارتفاع تكليف مكوناتها النقية بالنسبة للناتج المتحصل علية من عملية التخمير ، لذلك تستخدم البيئات الخام (غير التخليقية) مثل استخدام البيئات التى تحتوي على مسحوق فول الصويا، المولاس ، ماء نقيع الذرة وعليه فان البيئات الطبيعية تحتوى على مصادر خام غير معروفة التركيب تماما وتوفر معظم عوامل النمو للكائنات الحية الدقيقة ، حيث تكون مصادر الكربون والنيتروجين والخام فى مثل هذه البيئات فى صورة يمكن للكائنات الحية الدقيقة تمثيلها بواسطة الإنزيمات المحللة التى تفرزها فى البيئات الغذائية وسوف نلقي نظرة بسيطة عن أهم المواد الخام التى تستخدم بكثرة فى مجال الصناعات التخميرية.

المواد الخام التى تستخدم فى الصناعات التخميرية

أولاً: مصادر الكربون Carbon sources

١- المولاس Molasses

يعتبر المولاس من أهم النواتج الثانوية لصناعة السكر سواء من القصب أو البنجر، وعندما يستخدم المولاس كأحد مكونات بيئة التخمير يكون محتوى على حوالى ٥٢٪ من السكريات، وبالإضافة إلى احتواء مولاس القصب أو البنجر على السكروز فإنه يحتوى على مواد نيتروجينية بسيطة ومعقدة وأحماض عضوية وعوامل نمو وفيتامينات وأملاح معدنية خصوصاً الكالسيوم والفوسفور.

٢- الشعير ومنتجاته Barely and its products

يعتبر الشعير ومنتجاته مصدر كربون شائع الاستخدام خاصة فى صناعة البيرة وإنتاج الخميرة ومنتجات الشعير مثل المولت **Malt** والورت **Wort** ومستخلص المولت.

٣- مخلفات صناعة الورق Sulphite liquor wastes

ينتج هذا المحلول الكبريتيدى من صناعة لب الورق من الخشب بعد هضم الخشب لتحويله إلى لب سيليولوزى وذلك بواسطة كبريتيد الكالسيوم باستخدام الحرارة والضغط ، وتمثل اللجنوسلفونات حوالى ٢٠٪ من المادة العضوية للمحلول كما يحتوى على كمية مناسبة للعمليات التخميرية من السكريات الأحادية ، لذلك يمكن استخدام هذا المحلول كبيئة تخمر مخففة في إنتاج الكحول بواسطة ***Saccharomyces cerevisiae*** وفى إنتاج البروتين وحيد الخلية وذلك بواسطة تنمية خميرة ***Candida utilis*** واستخدام الناتج فى تغذية الحيوانات ويحتوى المحلول الكبريتيدى

المتخلف على ١٠-١٢٪ مواد صلبة ، تشكل السكريات حوالى ٢٠٪ أى انه يحتوى على ٢٪ سكر تقريباً . وتشمل هذه السكريات الهكسوزات مثل D – جلوكوز ،D– جالاكتوز ، D– مانوز وبنتوزات مثل D– زيلوز ، L– أرابينوز، ومع ذلك فان الكميات النسبية في هذه السكريات الموجودة فى المحلول الكبريتيدى تتوقف على درجة هضم الخشب ، ونوعية السكريات الموجودة مهمة جدا لنوع الميكروب الذي يستخدم فى التخمير حيث أن ***Saccharomyces cerevisiae*** تستخدم فقط السكريات السداسية في حين يمكن لسلاله الخميرة ***Candida utilis*** أن تخمر كلا من السكريات الخماسية والسداسية.

ويجب أن ننوه إلى أن سكريات هذا المحلول لا تتخمر مباشرة حيث ينبغي إزالة ثاني أكسيد الكبريت الحر من هذا المحلول أولا قبل إجراء التخمير وتتم عملية الإزالة هذه إما بواسطة الانتزاع بالبخار أو بواسطة المعادلة والترسيب باستخدام الجير أو كربونات الكالسيوم.

٤- الزيوت النباتية Plant oils

تستخدم الزيوت النباتية كمصدر للكربون فى بعض الصناعات التخميرية خاصة التخليق الحيوى للمضادات الحيوية، وغالبا ما تستخدم الزيوت النباتية في إزالة الرغاوى التى تتكون أثناء عملية التخمير.

٥- الشرش Whey

يمكن استخدام الشرش في بعض الصناعات التخميرية مثل إنتاج الكحول الإيثيلى ، إنتاج البروتين وحيد الخلية باستخدام بعض أنواع الخمائر، ويوجد حمض اللاكتيك فى الشرش بكميات متفاوتة تبعاً لطول فترة تخزين الحليب قبل تصنيعه وأنواع وطرق تصنيع الجبن.

٦- الهيدروكربونات Hydrocarbons

تختلف الكائنات الدقيقة في قدرتها على تمثيل الهيدروكربونات، بينما بعض البكتريا تتميز بقدرتها على تمثيل معظم الهيدروكربونات وهناك عدد محدود من الخمائر يمكنها تمثيل هذه المواد ويعتبر n–ألكان من أحسن مصادر الهيدروكربونات ويمكن تقسيمها إلى مجاميع تبعاً لعدد ذرات الكربون.

- **n–alkanes (C_1–C_9)**

يعتبر الميثان من أشهر مفردات هذه المجموعة من ناحية الاستخدام ويرجع ذلك إلى عدم احتياجه للتقطير بمقارنته بالمواد الخام الأخرى، ويمثل الميثان بواسطة العديد من البكتريا وقليل من الخمائر.

- **n–alkanes (C_{10}–C_{20})**

تمثل هذه المجموعة أنسب مصادر الكربون لنمو الميكروبات حيث تمثل عن طريق البكتريا والخمائر والأكتينوميسيتات والفطريات.

• C_{20} فأكثر   n-alkanes

يعتبر تمثيل هذه المواد بطيئاً مقارنة مع المجاميع الأقل عددا ويرجع ذلك لعدم وجودها على الصورة السائلة عند درجة حرارة الغرفة.

ثانياً: مصادر النيتروجين   Nitrogen sources

تستطيع الخميرة أن تستخدم العديد من مصادر النيتروجين غير العضوية مثل سلفات الأمونيوم وفوسفات الأمونيوم ثنائية الهيدروجين والتى تستخدم كمصدر للنيتروجين بواسطة الخميرة. كذلك تستخدم اليوريا فى بعض الصناعات التخميرية، أما عن مصادر النيتروجين العضوية التي تستخدم بكثرة في الصناعات التخميرية ماء نقيع الذرة ومستخلص الخميرة ودقيق فول الصويا وماء البطاطس.

١- ماء نقيع الذرة   Corn steep liquor

هو عبارة عن المستخلص المائي الثانوي الذى ينتج من نقع الذرة خلال إنتاج نشا الذرة والجلوتين إذ يركز ماء النقيع الناتج إلى حوالى ٥٠٪ مواد صلبة، ويستخدم وقد استخدم هذا المنتج بكثرة في إنتاج البنسيلين ويتطلب استخدام ماء نقيع الذرة وجود كربونات الكالسيوم بنسبة معينة وذلك لضبط pH البيئة عند المستوى المناسب لنمو الكائنات الحية الدقيقة أثناء عملية التخمير.

٢- مستخلص الخميرة   Yeast extract

يتم تحضير مستخلص الخميرة عن طريق التحلل الذاتي لخميرة الخباز أو خميرة البيرة ، تتم عملية التحلل الذاتى فى وعاء كبير وفى وجود التقليب المستمر والزيادة التدريجية فى درجة الحارة حتي تصل إلى ٥٠ درجة مئوية حيث تثبت درجة الحرارة عند ٥٠ لعدة ساعات ، ثم ترفع درجة الحرارة اعلي من ٧٥ بعد عملية التحلل الذاتى Autolysis لوقف نشاط الإنزيمات تنقل الخميرة بعد ذلك فى أوعية تحتوى على محلول كلوريد الصوديوم من أجل حدوث التحلل البلازمي ثم تتم عملية الترشيح أو الطرد المركزي لاستبعاد الجدار والغشاء الخلوى ثم يركز الناتج تحت درجة حرارة أقل من ٣٧ °م لمنع حدوث تلوث وللحفاظ على المحتويات التى لا تتحمل درجة الحرارة العالية.

٣- دقيق فول الصويا   Soybean flour

يعتبر دقيق فول الصويا مصدر هام للنيتروجين ويستخدم فول الصويا عند إنتاج المضاد الحيوى كلوروتتراسيكلين.

٤- ماء البطاطس   Potato water

عبارة عن السائل الناتج من هرس لب البطاطس إثناء إنتاج النشا حيث يكون عرضة للسلفرة Sulphuration والتخمر اللاكتيكي بواسطة بكتريا ***L.delberueckii***.

ثالثاً: العناصر الغذائية الأخري وعوامل النمو Nutrients and growth factors

يعتبر الفوسفور والماغنسيوم من أهم المكونات للبيئة الغذائية وذلك نظرا لاشتراكه في تفاعلات الطاقة وتحتوى الكائنات الدقيقة على Ca,K,S,Na مما يستلزم إضافتها إلى البيئة وبالنسبة للعناصر النادرة مثل الحديد والكوبلت والنحاس والزنك يجب إضافتها فى حالة ما إذا كانت البيئة الغذائية فقيرة فى العناصر، أما بالنسبة لعوامل النمو الفيتامينات مثل الثيامين والريبوفلافين وحمض النيكوتينيك وحمض البانتوثينيك والبيريدوكسين والبيوتين والاينوسيتول والكولين جميعها ضرورية لنمو الميكروبات حيث توجد بصور طبيعية فى مكونات بعض المواد الخام التى تستخدم في الصناعات التخميرية.

رابعاً: مضادات الرغاوى Antifoam agents

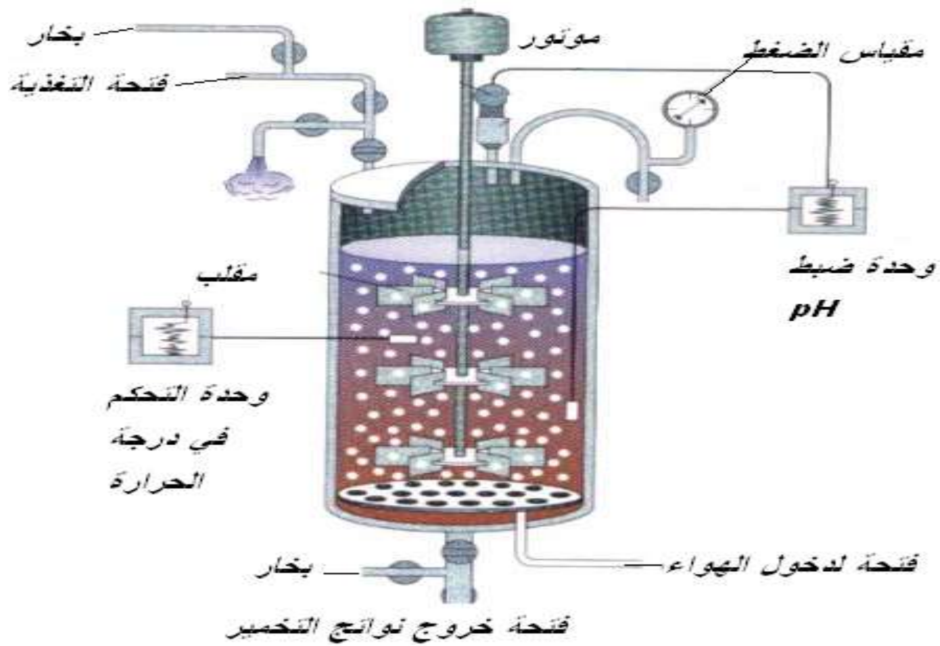
غالبا تظهر الرغاوى مصاحبة للعمليات ميكروبيولوجية وخاصة فى البيئات الطبيعية الغنية فى محتواها من ماء نقيع الذرة ودقيق فول الصويا، حيث يؤدي عدم التحكم فى الرغاوى إلى فقد كميات من البيئة الغذائية وكذلك المنتج هذا بالإضافة إلى تلوث محتويات البيئة التخميرية، وللتغلب على هذه المشكلة تضاف مضادات الرغاوى تقلل من التوتر السطحى Surface tension للسوائل. ومن المواد التي تستخدم بكثرة فى هذا الصدد زيوت فول الصويا، الشلجم ، جوز الهند، عباد الشمس ، الخروع ويجب التنويه إلى أنه يوجد بعض الميكروبات ذات مقدرة على تمثيل مثل هذه الزيوت وبالتالى استهلاكها مما يستلزم إضافتها بصورة مستمرة على دفاعات ، ومن المواد الأخري التى يمكن أن تستخدم كمضادات للرغاوى الكحولات ، ومن أشهرها Octadecanol حيث يضاف إما فى صورة نقية أو مرتبطة مع Lard oil أو زيوت معدنية حيث يستخدم على الصورة الأولى عند الإنتاج الحيوى للبنسلين بينما يستخدم على الصورة الثانية عند إنتاج حمض الستريك.

الظروف المزرعية Cultural conditions

أثناء عملية الإنتاج يجب توفير كل الظروف الغذائية والبيئة اللازمة للنمو ونشاط الميكروب المستخدم سواء من مواد غذائية، pH ، رطوبة ، حرارة، تهوية (هوائى أو لا هوائى) ، تقليب ، معادلة أو إزالة المواد التى توقف التخمر.

المنتج Product

يتم التخمير في مخمرات كبيرة الحجم كما في الشكل وفيها تتكون المادة المطلوبة مختلطة مع الميكروبات ومع نواتج أخري عديدة ونحصل على المادة المطلوبة باستخدام طرق الاستخلاص والتنقية المختلفة ويشترط فى هذه الطرق أن تكون مناسبة، سهلة، سريعة، اقتصادية.



شكل ٦(١) ١: نموذج لأحد المخمرات التى تستخدم على المستوى الصناعى

طرق تنمية الميكروبات أثناء العمليات التخميرية

أولاً: التنمية ذات الدفعة الواحدة (المتقطع) Batch cultures

فى التخمر المتقطع يملأ المخمر بالبيئة الغذائية المناسبة لإنتاج المادة الحيوية المطلوبة. تلقح البيئة الغذائية بالميكروب المناسب بالكمية المناسبة (البادئ)، ثم تضبط ظروف التخمر البيئية من pH ، وحرارة، وتهوية، بعد انتهاء عملية التخمير تسحب محتويات المخمر للحصول على المنتجات ثم يعاد تنظيف المخمر ويملأ من جديد البيئة الغذائية وتكرر عملية التخمير ، ويلاحظ أن الإنتاج في هذا النوع من التخمير يكون على دفعات Batches. ويتم في هذه الطريقة تلقيح الميكروب في البيئة الغذائية المناسبة والمحتوية على جميع المواد الغذائية اللازمة للنمو ثم يحضن تحت الظروف المثلي لتكاثر الميكروب، وبعد فترة التحضين الملائمة يتم فصل الخلايا إما بالترشيح أو بالطرد المركزى ويلاحظ فى هذه الطريقة أن جميع المواد الغذائية تضاف إلى البيئة فى البداية أى قبل تلقيح الميكروب، وفي نهاية فترة التحضين يتم الحصول على الخلايا كدفعة واحدة ويطلق عليها النظام المغلق وتقسم هذه الطريقة تبعا لنوع الميكروب المراد تنمية إلى:

١- مزارع ثابتة Static cultures

ويتم فيها تنمية الميكروب في دوارق أو أوعية خاصة محتوية على البيئة الغذائية ثم تحضن على درجة الحرارة المناسبة بدون رجها ، وتستخدم هذه الطريقة عادة فى تنمية الفطريات

لغرض الحصول على جراثيم أو حصيلة من النمو وحيث أن الفطر هوائي فانه ينمو مكونًا عديد من الهيفات التى تتجمع مع بعضها على سطح البيئة ويخرج منها الحوامل الجرثومية إلى أعلى حامله عديدا من الجراثيم ، ويلاحظ أن عملية الرج أو اهتزاز الدوارق تؤدى إلى سقوط النمو وغمره فى البيئة وبالتالى تؤدى إلى عدم تكوين جراثيم مع قله النمو لعدم توفر الأكسيجين اللازم لأكسدة المواد الكربوهيدراتية فى البيئة الغذائية وقد تسمى هذه الطريقة بالمزارع السطحية وهى تحتاج إلى مساحات كبيرة للحصول على كمية النمو المطلوبة ولكنها تتميز بعدم احتياجها إلى هواء مضغوط لعملية التهوية أو قوة ميكانيكية لعملية الرج.

٢- مزارع مهتزة Shake cultures

في هذه الطريقة توضع البيئة الغذائية بجميع مكوناتها فى دوارق وتلقح بالميكروب ثم تحضن على جهاز الرج ذو السرعات المختلفة، وتؤدى عملية الرج إلى ذوبان أكسجين الهواء الجوى فى البيئة وتوزيعه بتجانس فى الوسط كله وفى نفس الوقت يتم توزيع الخلايا والمواد الغذائية بتجانس فى البيئة السائلة مما يسهل حصول الخلايا على احتياجاتها من المواد الغذائية والأكسجين. وتتم التنمية عادة فى دوارق مخروطية سعة ١٠٠- ٢٥٠ مل / لتر ويوضع بها حوالى من ٢٠-٤٠٪ من حجمها بيئة غذائية حتى تسهل عملية الرج وزيادة معدل التهوية، ويلاحظ أن هناك علاقة بين معدل الرج ومعدل ذوبان الأكسيجين ويحدد معدل الرج حسب نوع الميكروب فنجد أن بكتريا الأزوتوباكتر تحتاج لمعدل رج منخفض والذى يؤدى بدوره إلى خفض معدل ذوبان الأكسجين حتى لا يحدث تثبيط لإنزيم النيتروجينيز ، بينما الخميرة تحتاج لأي معدل تهوية عالى للحصول على أعلى كمية نمو وتستخدم أجهزة رج دائرية وفي هذه الحالة تهتز المزرعة السائلة فى حركة دائرية ملامسة لجدار الداخلى للدورق تاركة انخفاض فى وسط الدورق ، وتستخدم أجهزة رج تتحرك فى خط أفقى مستقيم بالتبادل وتسمى Reciprocating shakers ، وهذا النوع من الرج يؤدى عند زيادة السرعة إلى ابتلال سدادات القطن بالبيئة مما يزيد من التلوث بميكروبات أخرى غير مرغوب فيها .

٣- المخمر ذو الدفعة الواحدة Fermenter as batch cultures

الهدف من استخدام المخمر هو الوصول إلى انسب الظروف لتنمية الميكروبات، ويختلف تصميم المخمر باختلاف الطريقة المستخدمة فى تنمية الميكروبات والمادة الخام المستخدمة والناتج النهائي من عملية التخمير.

ويختلف حجم المخمر من دوارق صغيرة تتراوح سعتها من ٢٥٠ مل / لتر إلى أكثر من ٢٠ لتر وهي تستخدم للتجارب المعملية ، أما المخمرات التى تستخدم فى الأغراض التجارية يصل حجمها إلى عدة أطنان وتتركب المخمرات عادة من اسطوانة زجاجية بقاعدة دائرية ، ويوجد فى المخمر

محور رئيسي يثبت علية أزرع للتقليب ومتصل بمحرك ذى سرعات مختلفة للتحكم في عملية التقليب ، وقد يستعاض عن ذلك بمقلب مغناطيسي. ويوجد للوعاء الزجاجي وعاء محكم علية عدة فتحات ذات أقطار مختلفة يوضع فيها الكترود لضبط درجة الحموضة داخل المخمر بإضافة حمض أو قلوى ، ويمر من إحدى فتحات الغطاء عمود كهربائي لضبط درجة الحرارة ، ويوضع فى إحدى الفتحات أنبوبة لتوصيل البيئة الغذائية إلى المخمر من خلال أنبوب مطاطى وأخرى لإخراج المزرعة أو أخذ العينات وذلك باستخدام مضخة إضافة وسحب خاصة ، كما يتم التحكم فى عملية التهوية عن طريق جهاز لقياس كمية الهواء الداخل.

للمخمر خلال أنبوبة طويلة تصل حتى قرب قاع المخمر بالقرب من محور المقلب حيث يخرج الهواء منها خلال فتحات صغيرة، وقد يتصل بالمخمر أجهزة خاصة لقياس الأكسجين وثانى أكسيد الكربون الذائبين فى المزرعة وتسجيل التغيرات المختلفة أثناء النمو.

ثانياً: طريقة التغذية الواحدة ذات التغذية المتزايدة Feed batch cultures

تؤدى إضافة المواد الغذائية وخصوصا مصدر الكربون فى بداية التخمير فى مزارع الدفعة الواحدة إلى إنتاج كمية قليلة من الخلايا إذا ما قورنت بكمية الكربون المستهلك ، فإذا ما قدر عامل النمو والذى يعبر عن كمية النمو الناتجة بالنسبة لكل جزئ سكر مستهلك حيث نجد أنه فى هذه الحالة يتراوح من ١٠-٢٠٪ ويرجع السبب فى انخفاض عامل النمو إلى أن جزء من السكر يحدث له تخمر أو أكسدة غير كاملة مكونا أحماض عضوية وكحولات وهذا يكون على حساب تكوين الكتلة الخلوية Biomass ، كما أن بعض الميكروبات مثل الخميرة إذا زاد تركيز الجلوكوز عن ٥٪ فان هذا التركيز يؤدى إلى تثبيط إنزيمات الأكسدة والاختزال ولذلك يلجأ الميكروب إلى طريقة أخرى للحصول على الطاقة مثل اللجوء إلى تخمير السكر حتي ولو كانت الظروف هوائية وللتغلب على ذلك يجب إتباع ما يلى :

١. إضافة كمية السكر على فترات بكميات متساوية، وإذا فرض أن فترة التحضين ١٥ ساعة فإن كمية السكر تضاف على ١٥ مرة بالتساوى حيث يؤدى ذلك إلى زيادة عامل النمو إلى ٣٠٪.
٢. إذا أضيف السكر على فترات بحيث تزيد الكمية فى فترة ما عن سابقتها بنسبة زيادة ثابتة فمثلا إذا أضيف جرام واحد فى الساعة الأولى وأضيف اثنان فى الساعة الثانية وكذلك ثلاثة فى الساعة الثالثة وهكذا فذلك يؤدى إلى زيادة عامل النمو إلى ٤٠٪.
٣. إذا أضيف السكر بمعدل يتساوى مع معدل نمو الميكروب بمعنى إضافة كمية السكر طبقا لكمية النمو المتوقعة حيث أنه فى هذه الحالة يكون معدل الإضافة فى الساعة مساو لمعدل

النمو فى الساعة ويؤدى ذلك إلى زيادة عامل النمو إلى ٥٠٪ وتسمى الحالة الأخيرة بطريقة الدفعة الواحدة ذات التغذية المتزايدة.

ونظرا لصعوبة إضافة السكر (العامل المحدد للنمو) بمعدل يتساوى مع معدل النمو للميكروب فى الساعة ، فعادة تضاف البيئة الغذائية المحتوية على السكر إلى المزرعة بمعدل تخفيف يتساوى مع معدل النمو التخصصي Specific growth rate ، وحيث أن معدل التخفيف هو عبارة عن معدل إضافة البيئة الغذائية بالملي لتر / ساعة / وحدة واحدة من حجم المزرعة فان حجم المزرعة يزداد باستمرار الإضافة ويمكن حساب معدل التخفيف من المعادلة التالية

$$D = F (V+Ft)^{-1}$$

حيث أن:

معدل التخفيف = D ، معدل الإضافة = F

حجم المزرعة بالملليلتر=V ، زمن الإضافة = t

ثالثاً: المزارع شبه المستمرة Semi- continuous culture

إن الغرض الأساسي من المزارع شبه المستمرة هو توفير الظروف المثلي للميكروب لكي يستمر فى النمو دون توقف كما يحدث فى مزارع الدفعة الواحدة، حيث يصل النمو إلى حد معين وهو نهاية الطور اللوغاريتمى ثم يبدأ معدل النمو فى الانخفاض نتيجة لتثبيط نمو الميكروب بإضافة بيئة غذائية جديدة باستمرار إلى المخمر وسحب كمية مماثلة من المزرعة بنفس المعدل ولذا تؤدى عملية السحب إلى تقليل نواتج التمثيل الغذائي إلى الحد الذي لايؤثر على معدل نمو الميكروب ويكون معدل نمو الميكروب داخل المخمر فى حالة ثبات، حيث يكون معدل استهلاك كلا من السكر والأكسجين ومعدل إنتاج ثاني أكسيد الكربون ثابتة خلال فترة الثبات هذه ، ويتم إجراء جميع الدراسات البيولوجية والفسيولوجية للميكروب النامي في المخمر خلال هذه الفترة . وتستمر حالة الثبات هذه مادام معدل إضافة البيئة ثابتا ومساويا لمعدل سحب المزرعة، وبمعني أخر فان الميكروب ينمو بمعدل متساوى مع معدل إضافة البيئة، ويستمر هكذا فى حالة ثبات حتي يتم تغير معدل التغذية . وتتوقف معايير النمو على معدل تدفق البيئة، ويعرف معدل التدفق بأنه كمية البيئة الغذائية المضافة بالملليلتر في الساعة إلى المخمر Flow rate (F).

Flow rate (F) = Fresh medium (ml)/Hour

وحيث أن معدل تدفق البيئة للمخمر لا يمكن أن تؤخذ كقيمة يمكن مقارنتها من مخمر إلى أخر نظرا لتغير حجم المخمر الذي يؤدى إلى تغير حالة الثبات بالرغم من ثبات معدل التدفق، ولذلك ينسب معدل التدفق إلى كمية المزرعة فى المخمر Working volume لكي نحصل على

معدل التخفيف Dilution rate والذي يعنى الكمية المضافة من البيئة إلى المخمر فى الساعة لكل وحدة من حجم المزرعة فى المخمر ويحسب كالتالى :

Dilution rate= Flow rate/ Working volume

فإذا فرض أن معدل التدفق =٥٠مل للتر / ساعة وكان حجم المزرعة فى المخمر هو ١٠٠٠ مل للتر فيمكن حساب معدل التخفيف كما يلي :

$D = 50 \div 1000 = 0.05 h^{-1}$

أى يضاف ٠.٠٥ مللى لتر بيئة جديدة فى الساعة لكل ١ مل للتر من المزرعة .

ولذلك فإنه فى التخمير المستمر يتم تغذية المخمر بمعدل ثابت من بيئة التخمير التى يتم تخميرها بواسطة الميكروبات تحت الظروف البيئية المناسبة المتحكم فيها أتوماتيكياً ويسحب الناتج باستمرار مع التغذية شبه المستمرة، لذلك فإن الإنتاج في هذا النوع من التخمير يتم بطريقة مستمرة وتوفر هذه الطريقة ظروفا أفضل فى الإنتاج كما أنها طريقة اقتصادية Economical method.

وعلي سبيل المثال فى حالة إنتاج البنسلين، تتم التخمرات الهوائية بطريقة المزرعة المغمورة Submerged culture حيث ينمى الميكروب مغمورا فى البيئة مع توفير وسائل التقليب والتهوية بالهواء المعقم المضغوط ويتم التحكم فى عوامل الإنتاج ألياً ولكى يكون المنتج اقتصاديا يصل حجم المخمر إلي٥٠٠م٣ كما في إنتاج المضادات الحيوية Antibiotics، وتمتاز طريقة المزرعة المغمورة عن المزرعة السطحية والتى ينمى فيها الميكروب على سطح البيئة بأن طريقة المزرعة المغمورة توفر المساحات الكبيرة التى كانت تتطلبها طريقة المزرعة السطحية كما أنها اقل تكلفة وتعطى إنتاج أكبر فى مدة أقصر.

طرق استخلاص النواتج التخميرية

Extraction methods of fermented products

تستكمل عملية التخمير باستخلاص المنتج المراد الحصول عليه، وقد تكون نواتج التخمير ذائبة أو غير ذائبة في بيئة التخمير كما قد توجد داخل خلايا الميكروب او قد تنطلق خارج الخلايا فى بيئة التخمير، وحيث أن تكلفة استخلاص نواتج عملية التخمير الميكروبي تمثل حوالي أكثر من ٥٠٪ من تكلفة الإنتاج فإن الحصول على محصول عالى يعتبر ضرورى لكى تكون عملية التخمير الميكروبى ناجحة من الناحية الاقتصادية، وقبل البدء فى عملية الاستخلاص لابد أن يتم عمل تحليل لمعرفة نسبة الناتج المراد فصله وذلك بإتباع طرق تحليل بسيطة، غير أنه يجب الحذر من أن تكون نتيجة التحليل مضللة وذلك لأن المحلول المتخمر يحتوي على أكثر من مكون وهذه المكونات قد تحتوي على نفس المجموعات الفعالة أو يكون لها نفس الخواص الكروماتوجرافية.

ويتم عملية استخلاص النواتج على عدة مراحل تتلخص فيما يلي:

١- الترشيح Filtration

يعتبر الترشيح أول خطوة من خطوات الاستخلاص ، والهدف من عملية الترشيح هو إزالة المواد غير الذائبة أو بقايا ميكروبات التخمير أو كلاهم معاً، ويوجد أنواع كثيرة من المرشحات تختلف باختلاف البيئة المراد ترشيحها ، فمثلاً يستخدم مرشح الترشيح الدوار Rotary vacuum filter فى ترشيح البيئات صعبة الترشيح أى التى تحتوى على كمية كبيرة من المواد الصلبة، وهذا المرشح يتكون من إسطوانة دائرية مغلقة من الخارج بنسيج راشح من المعدن أو الألياف، والإسطوانة مقسمة من الداخل إلى أربعة أقسام بحيث يمكن تعريض هذه الأقسام للتفريغ. ولتشغيل هذا المرشح يوضع فى حوض به معلق من نوع معين من الطين(١-٥٪ وزن/حجم) ويتم تعريض الأقسام الأربعة الداخلية مع جعل الإسطوانة تدور ببطء(لفة/ دقيقة) فيتكون غشاء من الطين حول المرشح المعدنى وهذا الطين يمكن أن يخترقه الماء من الداخل، وعندما يتكون سمك مناسب من غشاء الطين حول الإسطوانة(١-٢ بوصة) يوضع المرشح فى حوض يحتوى على البيئة المتخمرة المراد ترشيحها ، ويتم تشغيل التفريغ على القسمين ١, ٢ مع دوران الاسطوانة ببطء وبذلك فإن الأجزاء الصلبة يتم احتجازها على غشاء الطين فى الموضع ١, ٢ وينتشر الراشح من خلال الطين ويدخل إلى داخل الإسطوانة إلى الجزء الذى يستقبل الراشح ، ومع دورات الاسطوانة وعندما تصل إلى الموضع ٣ يتم الغسيل بالماء حتى لاتمر الأجزاء الصلبة إلى الداخل، وفى الموضع ٤ يوجد سكين حاد يزيل الطبقات الرقيقة من المواد الصلبة من على سطح طبقة الطين دون أن يحدث احتكاك بين السكين وطبقة الطين. ويوجد نوع أخر من المرشحات يسمى مرشح الإطار الطبقى Plate frame filter وهو مناسب لبيئات التخمر ذات المحتوى المنخفض من المواد الصلبة مثل بيئات الخمائر.

٢- الطرد المركزى Centrifugation

بعد إجراء الترشيح فإن النواتج المتبقية فى الراشح يمكن أن تفصل وتستخلص بالمذيبات العضوية عن طريق الطرد المركزى ، حيث تعتمد طريقة الاستخلاص بالطرد المركزى على معامل التجزئة Fraction coefficient، ولبيان ذلك نفترض أن لدينا مادة P ذائبة فى الماء اختلطت بحجم مماثل لها من مذيب غير قابل للامتزاج بالماء فإن مدى انتشار هذه المادة بين المذيب وبين الماء سوف يتم تقديره من معرفة معامل التجزئة (K) من المعادلة التالية :

$$K=P_s/P_w$$

حيث أن P_s هي تركيز المادة فى المذيب و P_w تركيز المادة فى الماء

ونجد أن قيمة K تتوقف على عدد من العوامل مثل درجة الحرارة والطبيعة الكيميائية للمادة المنتجة والمذيب المستخدم ودرجة pH ، واستخلاص البنسلين وهو مادة حمضية يعتبر تطبيق عملي لهذه الظاهرة حيث يخلط راشح البيئة المتخمرة المحتوى على البنسيلين مع جم أصغر منه مع المذيب Butyl acetate ثم بعد ذلك يحمض الخليط بخفض درجة ال pH باستخدام حمض الفوسفوريك فيتركز البنسيلين (غير متأين) فى طبقة المذيب غير القابل للامتزاج بالماء ولذلك يمكن فصلة من الوجه المائي ، بعد ذلك يخلط المذيب الغني بالبنسيلين مع محلول الفوسفات المنظم والذي له درجة pH ٧ فيتأين البنسلين وتتركز أملاحه المتأينة فى الوجه المائي لمحلول الفوسفات ثم بعد ذلك يكن فصل البنسيلين كمضاد حيوى من هذه الأملاح ، وعلى الرغم من أن المذيبات يمكن فصلها عن الماء عن طريق ترك الوعاء المحتوى عليها ساكنا لفترة حيث يطفو المذيب على السطح إلا أنه يمكن أن نسرع من عملية الفصل عن طريق الطرد المركزى.

٣- سحق الخلايا Cells crushing

عندما يكون المنتج المطلوب استخلاصه محجوز داخل الخلايا مثل الإنزيمات الداخلية فلابد من تمزيق الخلايا وتفتتها للحصول على هذا المنتج ، ويوجد عدة طرق لسحق الخلايا منها استخدام الموجات فوق الصوتية Ultra- Sonic، حيث تخفف الخلايا بمحلول منظم وتعرض للموجات فوق الصوتية وينتج عن هذه الطريقة كمية كبيرة من الحرارة ولذلك يتم تشغيل الجهاز على فترات متقطعة (١-٢ دقيقة) أو اجراء عملية تكسير الخلايا فى وجود ثلج مجروش حول الإناء المحتوى على الخلايا، وهذه الطريقة مناسبة فقط على مستوى المعمل ولا تصلح للتطبيق على المستوى الصناعي لان الموجات فوق الصوتية لا تؤدى إلى تمزيق جميع الخلايا الموجودة فى الوسط ، ومن الطرق المستخدمة أيضاً لسحق الخلايا هي طحنها مع رمل ناعم فى هون معدني وهذه الطريقة أرخص وأفضل من استخدام أجهزة الموجات فوق الصوتية Ultra- Sonic. وفى الصناعات الصغيرة يستخدم وعاء يشبه الخلاط حيث يتم تقليب مخلوط الخلايا مع الرمل او خرز زجاجى ، وبعد عملية الطحن يتم الترشيح من خلال الشاش وتعتبر هذه الطريقة من أرخص الطرق المستخدمة ، أما على المستوى الصناعى الكبير يتم طحن الخلايا مع خرز من الزجاج أو الرمل فى أجهزة من الأستانليس ستيل وهذه الأجهزة مزودة بتحكم فى درجة الحرارة وذلك بالتبريد المستمر أثناء عملية تمزيق الخلايا .

٤- الفصل عن طرق التبادل الأيوني Separation by ion exchange method

يمكن فصل وتنقية النواتج التى لها خاصية التأين فى راشح بيئة التخمر عن طريق التبادل الأيوني ، ويستخدم بعض المواد الراتنجية فى هذه العملية حيث تصنع بطريقة تقلل من تشربها للماء وعادة تستخدم هذه المواد على صورة خرز كروى الشكل ، وعادة تجهز المواد الراتنجية التى

تستخدم لاستخلاص الكاتيونات فى شكل أعمدة تحمل أيونات الصوديوم ، أما تلك المستخدمة لاستخلاص الأنيونات فتجهز فى شكل أعمدة تحمل أيونات الكلوريد ويمكن استخلاص المضاد الحيوى الإستربتوميسين بهذه الطريقة ، حيث يستخدم حمض كربوكسيلي كمادة راتنجية لاستخلاص الإستربتوميسين من راشح البيئة Medium filtrate المخمرة حيث يوضع هذا الحمض فى عمود ثم يمرر فيه محلول هيدروكسيد صوديوم ١٠ ٪ من أعلى إلى أسفل وذلك لتحميل أيونات الصوديوم على مادة الاستخلاص ثم يتم الغسيل بالماء المقطر لإزالة الصوديوم الزائد ولذلك يسمى عمود الصوديوم ، وتتم عملية الاستخلاص بتمرير راشح بيئة التخمير فى أعمدة الصوديوم حتى تتشبع المادة الراتنجية بكاتيونات المضاد الحيوي (الإستربتوميسين) وبعد ذلك يتم الغسيل بالماء المقطر للتخلص من الزيادة من راشح البيئة المختمرة ثم بعد ذلك يمرر حمض الهيدروكلوريك ٠,١ عيارى فى أعمدة الفصل ببطء ليستخلص الإستربتوميسين.

٥- الاستخلاص بالمجففات الاسطوانية Extraction by cylindrical driers

تستخدم هذه الطريقة فى الاستخلاص عندما يوجد المنتج داخل خلايا البكتريا أو ميسليوم الفطر أو عندما يكون المنتج غير ذائب ، وفى هذه الطريقة يضاف المذيب المناسب إلى بيئة التخمير مع التقليب الجيد ثم الترشيح ثم التبخير حتى الجفاف ، وتستخدم المجففات الإسطوانة بالنسبة للمنتجات غير المتطايرة سواء أكانت فى صورة سائل بيئة التخمير أو بعد الحصول عليها فى صورة سائل رطب ، ويتركب المجفف الاسطواني من اسطوانتين متلامستين بينهما فراغ فوق منطقة التلامس وهذا الفراغ يستقبل السائل المراد تجفيفه ، ويتم تسخين الإسطوانتين بواسطة البخار المضغوط وتدار الإسطوانتان ببطء بمعدل ١-٢ لفه / دقيقة وعند انسياب السائل على سطح الاسطوانتين من خلال المسافة الصغيرة التى تفصل بينهما يحدث بخر سريع للماء وتبقى المادة الصلبة مكونه غشاء رقيق على سطح كل إسطوانة ثم يتم إزالة هذه المواد الصلبة أثناء دوران الإسطوانة بواسطة سكين حاد مثبت على سطحها ، ويستخدم هذا النوع من الاستخلاص فى إنتاج المواد المستخدمة فى تغذية الحيوانات عن طريق التخمرات الصناعية كما تستخدم أيضاً فى تجفيف الخميرة المنتجة بغرض إضافتها للعلائق.

٦- طرق استخلاص أخري Other extraction methods

يمكن استخدام أجهزة التقطير تحت تفريغ فى تركيز المذيبات المراد إنتاجها من عمليات التخمرات الميكروبية وذلك عند درجة حرارة تتراوح من ٢٠-٥٠ °م ، كما تستخدم أعمدة التقطير Distillation column لتنقية المذيبات المستخدمة فى الاستخلاص ، كذلك تستخدم أجهزة التجفيد Lyophilization أو التجفيف تحت التفريغ Drying under vacuum لإزالة الماء من نواتج التخمر دون التأثير على نشاطها حيث يكون المنتج فى

النهاية على شكل بودرة وذلك مثل ما يتم فى المرحلة النهائية لإنتاج كبريتات الإستربتوميسين ، كما تستخدم طرق الفصل الكروماتوجرافي **Chromatographic methods** أيضا فى استخلاص نواتج التخمير ومن أهم مميزات الطرق الكروماتوجرافية التى تستخدم لفصل المنتجات الميكروبية ما يلى :

١- أنها بسيطة وغير مكلفة.

٢- ارتفاع نسبة الاستخلاص والتي قد تصل إلى ١٠٠ ٪.

٣- الحصول على نقاوة عالية للمنتج فى خطوة واحدة.

٤- يمكن فصل العديد من المواد المذابة بهذه الطريقة فى نفس الوقت.

٥- وجود العديد من بيئات الفصل الكروماتوجرافي في صورة متاحة تجارياً.

(الباب السادس-الفصل الثانى)

إنتاج كحول الإيثانول (الكحول الإيثيلي) Ethanol production

إن أحد الحلول الجزئية لمواجهة الحاجة المتزايدة من الطاقة وارتفاع أسعار البترول والحفاظ على البيئة من التلوث هو البحث عن مصادر جديدة للطاقة Energy renewable sources ، ولذلك فقد ازداد فى السنوات الخيرة الأبحاث الخاصة باستخدام الكائنات الحية الدقيقة فى إنتاج الكحولات مثل استخدام الخميرة وبعض أنواع البكتريا مثل بكتريا *Zymomonas mobilis* ، حيث أن الهدف الأساسى من إنتاج كحول الإيثانول هو مزجه مع البنزين ليستعمل كوقود لوسائل النقل ، أو يتم إنتاج الإيثانول بغرض استخدامه كوقود كمجال جديد من مجالات التكنولوجيا الحيوية ، وعلى سبيل المثال نجد أن الإنتاج الكلى من الإيثانول فى استراليا يبلغ حوالى ١٣٥ مليون لتر إلا أن حوالى ٥٠ مليون لتر منها فقط هى التى تستعمل للمزج مع البنزين لتستعمل كوقود لوسائل النقل ، علما بان هذه النسبة تقل عن ذلك كثيرا فى معظم بلدان العالم بل هناك بلاد كثيرة لم تبدأ بعد فى تنفيذ هذا النظام ومنها جمهورية مصر العربية.

ولقد ظهرت فى الأونة الأخيرة بعض التعليقات السلبية الخاصة باستعمال الإيثانول كوقود، حيث ركزت هذه التعليقات على الادعاء بالضرر الذي يمكن أن يحدث لمحركات وسائل النقل والذي يحدث عند استعمال المزيج المحتوى على اكثر من ١٠٪ إيثانول ولكن الدراسات التى أجريت فى استراليا أكدت أن استعمال الإيثانول كوقود يتضمن منافع بيئة وتطوير للصناعات ، وأن مصادر المواد الخام اللازمة لإنتاجه متوافرة ومتجددة ، وبالنسبة لمحركات السيارات فلا يحدث لها أى ضرر كما أنها ليست بحاجة إلى أى تعديل عندما يستخدم البنزين مع الإيثانول فى حدود ٢٤٪ . وعلى ذلك فان عدد كبير من الولايات فى أمريكا يخلط الإيثانول بنسبة ١٠٪ مع البنزين للاستعمال كوقود للسيارات، أما فى البرازيل فيضاف الإيثانول بنسبة ٢٤٪ مع البنزين، ومن المتوقع أن تزداد فى المستقبل نسبة الإيثانول المضافة إلى البنزين حتي يتم إحلال كلى للإيثانول بنسبة ١٠٠٪. وعلى الرغم من أن معظم طرق إنتاج الإيثانول على المستوى التجاري المتبع الأن ما زالت قديمة، إلا أن الدراسات التى أجريت على محاصيل الحبوب مثل الذرة أوضحت أن استخدمها فى إنتاج الإيثانول يعتبر عملية مربحة، حيث أظهرت هذه الدراسات أن اقتصاديات إنتاج الإيثانول تتوقف على تكلفة المادة الخام، قيمة المنتجات الوسطية المصاحبة للمنتج الرئيسى ، سعر الإيثانول المنتج، تكاليف الطاقة ، الأيدى العاملة ، أسعار المواد المنافسة مثل البترول ومشتقاته.

ويوجد ثلاثة اعتبارات أساسية تؤثر على نجاح عملية إنتاج الإيثانول وهى:

١- كفاءة تحويل السكر إلى إيثانول.

٢- كمية الطاقة المستهلكة.

٣- مدى توفر المخلفات (المنتجات الثانوية) التى تستخدم فى الإنتاج.
ومن المتوقع أن يزداد إنتاج الإيثانول عن طريق التخمير خصوصا بعد تطبيق التقنيات الحديثة التى تقلل من تكاليف الإنتاج بالإضافة إلى زيادة أسعار البترول المستمرة.

ومن المعتقد أن إنتاج الإيثانول كوقود حيوى Biofuel من الحبوب أصبح عملية معروفة بشكل جيد وانه لايوجد تقدم يمكن توقعه فى هذا الصدد إلا أن ذلك الاعتقاد بعيد كل البعد عن الحقيقة، وذلك لان الأبحاث فى مجال إنتاج الإيثانول والتحليل الإنزيمى للمواد الخام قبل تخميرها والتخمير والتقطير والاستخلاص ومعالجة المخلفات وكيفية استثمار النواتج الوسطية مازالت تأتى كل يوم بجديد. ويجب أن ننوه إلى أن المسئولية تقع على عاتق وزارتي الصناعة والبحث العلمي وكذلك الجامعات والمراكز البحثية والتى يجب أن تهتم بتصميم الأجهزة الجديدة التى يتم إدخالها على مصانع إنتاج الإيثانول، كذلك يجب أن يتم المزيد من الدراسات على إدخال تقنيات جديدة لإنتاج الإيثانول مثل تحويل السيليولوز إلى إيثانول.

ويعتبر كحول الإيثانول من الكحولات التي تستخدم بكثرة في كثير من الصناعات الكيميائية وفي المعامل وفي بعض الأغراض الطبية، كذلك يستخدم كحول الإيثانول كوقود في بعض الدول مثل البرازيل. ومن المعروف أن عدد كبير من الكائنات الحية الدقيقة يقوم بتخمير السكريات إلى إيثانول مثل الخميرة من النوع

Saccharomyces cerevisiae التى تستخدم الجلوكوز والفركتوز والمالتوز كمصادر للكربون ، ***Saccharomyces diastaticus*** التى تستخدم الدكسترينات (Dextrins) كمصدر للكربون ، بينما تستخدم الخميرة من النوع ***Kluyveromyces fragilis, Kluyveromyces lactis*** سكر اللاكتوز كمصدر للكربون. كذلك يمكن استخدام البكتريا اللاهوائية إجباراً التى تتبع جنس ***Zymomonas*** فى إنتاج الكحول الإيثيلى ومنها الأنواع:

Zymomonas mobilis **and** ***Zymomonas anaerobia***

الشروط الواجب توافرها فى الخمائر المستخدمة فى إنتاج الإيثانول

١- يجب أن يكون للخمائر قدرة على تحمل الضغط الأسموزي المرتفع.
٢- يجب أن يكون للخمائر القدرة على تحمل التركيز العالى من الكحول الإيثيلى.
٣- يجب أن تتميز بالنمو السريع وذات كفاءة فى معدل التخمير.
٤- يجب أن تتحمل التركيزات العالية من الحموضة حيث أن هذه الخاصية تساعد على منع التلوث.
٥- يجب أن تتحمل درجات الحرارة العالية لتقليل تكاليف الإنتاج.
٦- يجب أن تتميز بخواص تلبد جيدة Flocculation ، حيث أن هذه الخاصية تسهل عملية فصل الخلايا قبل الاستخلاص.

٧- يجب أن يكون لها القدرة على تخمير عدد كبير من المواد الخام السكرية ذات تركيز عالى من السكر.

وتقوم الخميرة من النوع *Saccharomyces cerevisiae* بإنتاج الإيثانول من الجلوكوز لاهوائياً عن طريق دورة التحلل الجليكولى وذلك طبقاً للمعادلة التالية:



$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2CH_3{-}CO{-}COOH \longrightarrow 2CH_3{-}CH_2OH + 2CO_2$$

جلوكوز بيروفيك إيثانول

والمعادلة السابقة هي أشهر معادلة معروفة في التخمرات بشكل عام وتعرف بمعادلة التخمر العامة ومن المهم جدا لكل دارسي التخمر تأمل المعادلة السابقة لاستنتاج الآتي:

وبحساب الوزن الجزيئي لسكر الجلوكوز نجد أنه ١٨٠ وبحساب الوزن الجزئي للكحول الناتج نجد أنه ٤٦ مضروبة في ٢ أي ٩٢، وهذا يعني أن كل ١٠٠ جرام سكر جلوكوز تعطي من الناحية النظرية ٥١,١ جرام كحول، غير أنه لا يوجد ميكروب يعطي ١٠٠٪ من القيمة النظرية ولكن أفضل الميكروبات تعطي حوالي ٩٠٪ من القيمة النظرية بسبب استخدام جزء من السكر فى نمو الخميرة وكذلك بسبب تحول جزء أخر من السكر إلى نواتج وسطية أخرى. وتختلف الميكروبات المنتجة للإيثانول فى كفاءة التخمير، ولذلك فإنه تبذل الكثير من الجهود فى مجال البيوتكنولوجي والهندسة الوراثية من أجل الحصول على سلالات تعطى كفاءة تخمير عالية. وبناء على ماسبق فإنه يمكن حساب كفاءة التخمير من المعادلة الأتية:

كفاءة التخمير(٪) = وزن الإيثانول الناتج ÷ القيمة النظرية للإيثانول × ١٠٠

ولا يوجد عملية إنتاج للإيثانول بكفاءة تخمير أكثر من ٩٣٪ من القيم النظرية على المستوى التجارى ، وتتوقف كفاءة التخمير على عدة عوامل منها:

١- كفاءة الخميرة المنتجة.

٢- كفاءة عملية التسكير.

٣- مدى ملائمة ظروف الإنتاج سواء الظروف البيئية أو الغذائية.

٤- كفاء عملية الاستخلاص.

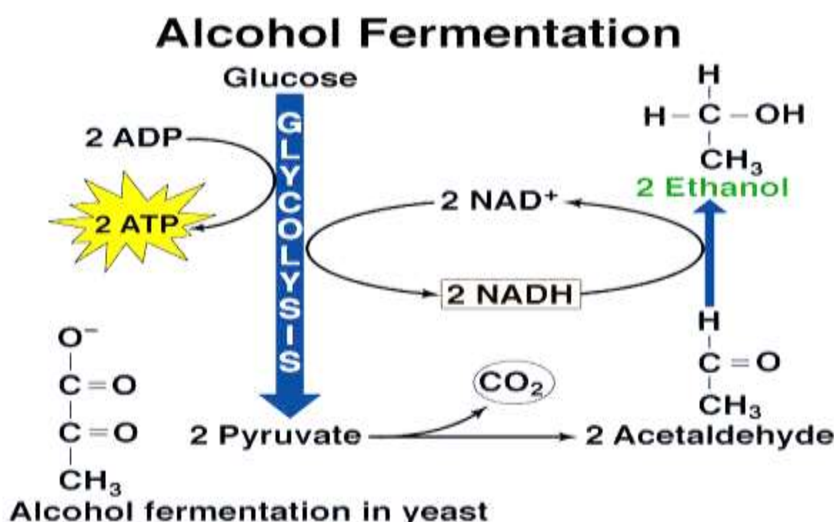
ويعتبر كحول الإيثانول من الكحولات التي تستخدم بكثرة في كثير من الصناعات الكيميائية وفي المعامل وفي بعض الأغراض الطبية Medical purposes، كذلك يستخدم كحول الإيثانول كوقود في بعض الدول مثل البرازيل وقد عرف كحول الإيثانول منذ زمن بعيد عندما لوحظ تخمر بعض عصائر الفاكهة مثل عصير العنب، ويستخدم في إنتاج الكحول علي نطاق تجاري مواد خام رخيصة الثمن من مخلفات المصانع مثل مخلفات مصانع السكر (مولاس قصب السكر ومولاس بنجر السكر)، ومخلفات مصانع الورق (السائل الكبريتيدي) ومخلفات مصانع الألبان (الشرش)، ومخلفات مصانع

النشا والجلوكوز والمواد النشوية (نشا الذرة)، ومخلفات مصانع العصائر ومصانع البطاطس ومخلفات مصانع الأخشاب (السيليولوز المحلل)، أو المخلفات الزراعية (المواد السيليولوزية المحللة مثل قش القمح والأرز وعيدان وقوالح الذرة).

وعند إنتاج الكحول الإيثيلى من المولاس تستخدم سلالة من خميرة ***S.cerevisiae*** ، ولكن عند إنتاج الكحول الإيثيلى من الشرش تستخدم سلالة من خميرة ***C. tropicalis*** والمعادلة التالية توضح تخمر سكر الجلوكوز بواسطة الخميرة.

جلوكوز ——إنزيمات الخميرة——> 2 كحول إيثانول +2 ثاني أكسيد الكربون

ويوضح شكل ٦ (٢) –١] ميكانيكية التخمر الكحولى بواسطة الخميرة.



شكل ٦ (٢) –١: خطوات التخمر الكحولى

إنتاج الكحول الإيثيلى بواسطة الخميرة Ethyl alcohol production by yeast

يعتبر التخمر الكحولي من الصناعات التخميرية التي عرفت منذ العصور القديمة وهي من أهم الصناعات التخميرية وأكثرها انتشارا في العالم لتعدد استخدامات كحول الإيثانول في كثير من المجالات الطبية والدوائية والصناعية والزراعية بالإضافة إلي استخدامه في مجالات الطاقة المختلفة وكوقود للسيارات في بعض دول العالم مثل البرازيل وأمريكا كبديل للبنزين.

إنتاج كحول الإيثانول من المولاس Ethanol production from molasses

يستخدم المولاس بكثرة كمصدر للكربون والطاقة بواسطة الكثير من الكائنات الحية الدقيقة ، حيث يحتوى علي ٤٨–٥٠٪ سكروز، ويجب التنويه إلي أن المولاس به نسبة قليلة من المواد النيتروجينية والفوسفاتية لا تفى بحاجة الكائنات الحية الدقيقة الغذائية ، وعند استخدام المولاس في

إنتاج الكحول يتم تخفيف نسبة السكروز فى المولاس لتصل إلي١٠ ٪ ويتم خفض الـ pH إلى ٥, ٤ وهي درجة الـ pH المناسبة لنمو الخميرة ، كذلك يضاف للمولاس سلفات أمونيوم وفوسفات أمونيوم بنسبة ٠,٢ – ٠,٤٪ ، وقد يضاف بعض المواد الأخرى مثل مستخلص الخميرة كمصدر للمنجنيز والفيتامينات، ويتم التلقيح بلقاح الخميرة المحضر حديثاً، ثم يضبط المخمر لتوفير جميع الظروف الملائمة لإكثار الخلايا هوائياً وإعطاء كتله حيوية كافيه عندئذ يتم وقف التهوية وينخفض تركيز الأكسجين الذائب تدريجياً وتسود الظروف اللاهوائية وتبدأ الخلايا في تخمير السكر وإنتاج كحول الإيثانول وتستمر فترة التحصين من ٢–٣أيام . وتتراوح إنتاجية الكحول من ١–٢جرام إيثانول/الساعة/جرام خميرة جافه أو ١–١٠جرام كحول/لتر بيئة/ساعة، ويتوقف ذلك علي سلالة الخميرة و عدد الخلايا في المخمر والمادة الخام المستخدمة وطريقة التنمية، السلالة المستخدمة هي *S. cerevisiae* ، حيث تمتاز هذه الخميرة بالنمو الغزير وقدرتها العالية علي إنتاج كميات كبيرة من الكحول .



شكل ٦ (٢) –٢: *Saccharomyces cerevisiae*

خطوات الإنتاج

أولاً: تحضير البادئ Starter preparation

لتحضير البادئ يتم تلقيح أنبوبة اختبار محتوية علي ١٠ مل من بيئة مستخلص المولت بواسطة سلالة منتقاة من الخميرة. ثم تحضن علي درجة حرارة ٢٥–٢٨°م لمدة ٤٨ ساعة ثم تستخدم هذه المزرعة في تلقيح دورق مخروطى بـه ٢٥٠ مللى لتر من بيئة مستخلص المولت ثم يستخدم الناتج في تلقيح ٤ لتر من بيئة المولاس المعقم ثم التحضين علي درجة الحرارة السابقة ولمدة ٤٨ ساعة ويلاحظ أن توفير التهوية عامل مهم جدا في مرحلة إعداد البادئ.

ثانياً: التخمير Fermentation

يضاف البادئ بنسبة ١٠٪ من حجم المخمر إلي محلول المولاس المخفف والذى يصل به تركيز السكر إلي ١٠٪، بعد ذلك تضاف أملاح النيتروجين والفوسفور بالكميات المطلوبة لأن المولاس فقير في هذه العناصر ويتم التخمير عادة علي درجة pH ٤-٤,٥ ويستخدم عادة حمض الكبريتيك في ضبط درجة الحموضة، والمراحل الأولى من التخمير تحتاج إلي تهوية كافية لتكوين كتلة حيوية Biomass لذلك يجب دفع هواء معقم بمعدل مناسب فى المراحل الأولى ، بينما لا يحتاج إنتاج الإيثانول إلي تهوية حيث يتم ذلك في ظروف لاهوائية.

درجة حرارة التخمير Incubation temperature

تضبط درجة الحرارة علي٣٠°م ولكن أثناء التخمير يحدث ارتفاع في درجة الحرارة ، لذلك تستخدم ملفات للتبريد أو يرش ماء بارد علي تنك التخمير حتى لا ترتفع درجة الحرارة عن ٣٠°م لأن الحرارة المرتفعة تؤدى إلي تطاير جزء من الكحول الناتج ، كما أن ارتفاع درجة الحرارة يحد من نشاط الخميرة ويشجع من نمو البكتريا الملوثة لبيئة التخمير تحت هذه الظروف ، ويستمر التخمير لمدة تتراوح من ٥٠-٧٠ ساعة أى بمتوسط ٦٠ ساعة ، ويعرف انتهاء التخمير بهبوط الفوران الناتج من انطلاق ثانى أكسيد الكربون أو بقياس تركيز السكر والكحول حيث من المعروف أنه في نهاية التخمير يتحول حوالى ٩٠٪ من السكر إلي كحول وغاز ثانى أكسيد الكربون.

ثالثاً: عملية التقطير Distillation procedure

يتم الحصول علي الكحول الناتج بواسطة تقطير السائل المتخمر ويمثل كحول الإيثيل حوالى ٤٨٪ من النواتج النهائية ويمثل ثانى أكسيد الكربون حوالى ٤٧٪ حيث يتم جمعه وتنقيته و ضغطه في إسطوانات لاستعماله في صناعة المياه الغازية وطفايات الحريق أو يحول إلي ثلج جاف ليستخدم في حفظ الأغذية بالتجميد.

النواتج الثانوية للتخمر الكحولى By-products of alcoholic fermentation

ينتج أثناء عملية التخمر الكحولى العديد من المركبات بجانب الكحول وثانى أكسيد الكربون ، حيث ينتج كميات قليلة من الجليسرول (٣٪) وحمض السكسنيك واللاكتيك (١٪) وبعض الكحولات الأخرى مثل الأمايل والأيزوأمايل ، أيضاً ينتج زيت الكحول والذى يمثل ١٪ حيث يستخدم هذا الزيت فى صناعة البويات.

إنتاج الكحول الإيثيلى من مخلفات صناعة الورق

Ethanol production from spent sulfite liquor

تستخدم مخلفات صناعة الورق في إنتاج الكحول الإيثيلى حيث تحتوى هذه المخلفات علي ٣٠٪ كربوهيدرات عبارة عن جلوكوز ومانوز وجلاكتوز ، وتصل نسبة السكريات القابلة للتخمر إلي ٧٠٪ ، ويمكن استخدام هذا المحلول فى إنتاج الإيثانول بواسطة ***S.cerevisiae*** ، وقبل تلقيح سائل السلفيت بسلالة الخميرة يتم التخلص من ثانى أكسيد الكبريت وحمض اللاكتيك والفورميك وذلك بمعاملة السائل بالبخار ثم معاملة السائل بالجير أو كربونات الكالسيوم .

عملية الإنتاج Production procedure

يتم تجميع السائل المتخلف عن صناعة الورق ثم ينقى ويصفى ويخزن في تنك يضخ من أسفله تيار من البخار حيث تصل درجة الحرارة إلي ٩٠°م وفي هذه الأثناء يتم التخلص من ثانى أكسيد الكبريت ، بعد ذلك يتم ضخ السائل الساخن عبر غرابيل للتخلص من ألياف لب الخشب ويخزن هذا السائل في تنكات وذلك بعد مرور السائل علي مبردات لخفض درجة حرارة السائل إلي٣٠ °م ، بعد إجراء عملية التبريد يتم ضبط **pH** السائل إلي ٤,٥ ثم تضاف اليوريا كمصدر للنيتروجين ، بعد إجراء عملية المعالجة المطلوبة لـ **Spent sulfite liquor** يتم نقله إلي تنكات التخمير ثم يضاف بادئ الخميرة مع توفير التهوية في المراحل الأولى فقط ويتم التخمير علي درجة حرارة ٣٠°م لمدة ٢٤ ساعة ، وتعتبر الولايات المتحدة الأمريكية وألمانيا وكندا من الدول الرائدة في إنتاج الكحول الإيثيلى من مخلفات صناعة الورق.

إنتاج الكحول الإيثيلى من الشرش Ethanol production from whey

يتم فرز الشرش (السائل او الراشح المتخلف من صناعة الجبن) لفصل الدهن ثم يتم تسخين الشرش إلي درجة الغليان لترسيب بروتينات الشرش ويضبط الـ **pH** عند ٥، بعد ذلك تجرى عملية ترشيح لفصل البروتين ثم يبرد الشرش الرائق إلي درجة حرارة ٣٤°م ، ثم يضاف البادئ وهو عبارة عن خميرة من النوع ***C. tropicalis*** بمعدل ١ رطل / ١٢٠ جالون من الشرش، مدة التخمير من يومين إلي ثلاثة أيام بعد ذلك يتم فصل خلايا الخميرة ويتم تقطير المتخمر للحصول على الكحول.

إنتاج كحول الإيثانول بواسطة البكتريا

تستخدم بعض أنواع البكتريا اللاهوائية إجبارياً التى تستطيع أن تتحمل التركيزات المنخفضة من الأكسجين فى إنتاج كحول الإيثانول مثل

Zymomonas mobilis* & *Zymomonas anaerobia .

حيث تستطيع هذه البكتريا أن تخمر سكر الجلوكوز والفراكتوز وتكون كميات متساوية من كحول الإيثانول وثانى أكسيد الكربون عن طريق مسار **Entner –Doudoroff pathway** ، فى هذا المسار ينتج مركبين هما حمض البيروفيك و٣- فوسفو جليسر ألدهيد ويتكون $NADH_2$ الذى يختزل الأسيتالدهيد إلى كحول الإيثانول، وتنتج هذه البكتريا ٢,٨- ٣ جرام من الإيثانول /ساعة/ جرام خلايا وهذه الكمية تساوى ضعف ما تنتجه الخميرة من كحول عند تخمير السكريات.

وتتميز بكتريا الزيموموناس بتحملها لضغط أسموزي عالى حيث تستطيع معظم سـلالاتها النمو فى محاليل تحتوى على ٤٠٪ جلوكوز، وفى الوقت الذى يندر فيه وجود سـلالات بكتيرية تقاوم التركيزات العالية من كحول الإيثانول نجد أن سـلالات بكتريا زيموموناس موبيليس تقاوم التركيزات العالية من الكحول حيث تستمر فى عملية التخمير على درجة حرارة ٣٠°م وحتى تركيز ١٣ ٪ كحول ، ويرجع تحملها للتركيزات العالية من الكحول إلى الطبيعة الغير عادية لتركيب غشاء الخلية ، وعلى الرغم من مميزات الزيموموناس موبيليس إلا أنها لم تحل محل الخميرة فى الإنتاج الصناعى الضخم للكحول ، ويرجع ذلك إلى اعتبارات تتعلق بميتابوليزم الكربوهيدرات فى الزيموموناس فهى تستخدم ثلاث مواد فقط هى الجلوكوز والفركتوز والسكروز ، يؤدى النمو على السكروز والفركتوز إلى تحويل ١٠ ٪ منها أو أكثر إلى مواد أخرى غير الكحول مثل الداى هيدروكسى أسيتون والمانيتول والجليسرول.

ولقد أمكن بتقنية الهندسة الوراثية نقل بعض جينات الزيموموناس المسئولة عن إنتاج الكحول مثل الجينات الخاصة بإنزيمات **Alcohol dehydrogenase** و**Pyruvate decarboxylase** الى بكتريا القولون ***Escherichia coli*** التى بإمكانها تمثيل أى سكر إلا أنها لا تنتج الكحول ، وقد أصبح بإمكان بكتريا القولون إنتاج كحول من السيليولوز أو أى مخلف نباتى.

التقنيات الحديثة فى إنتاج الإيثانول

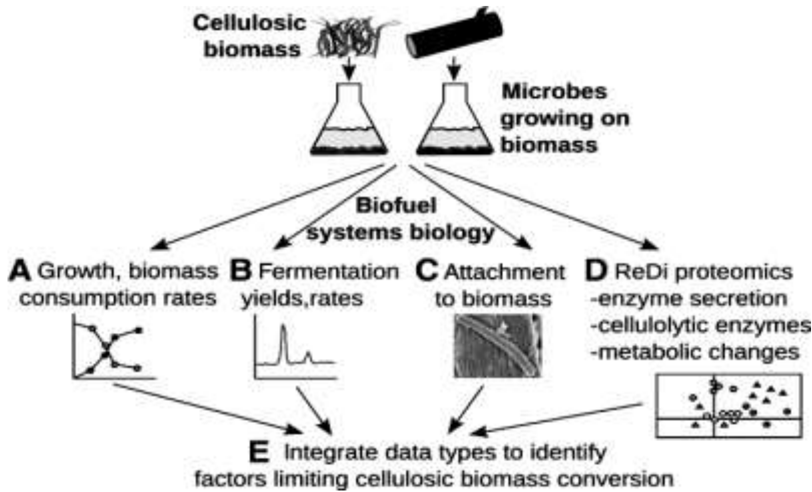
Modern techniques for Ethanol production

تتعلق التقنيات الحديثة فى إنتاج الكحول بثلاثة أمور رئيسية وهى المواد الخام وسلالات الخمائر والعمليات الإنتاجية وسوف يستمر التغيير فى التقنيات بغرض خفض تكاليف إنتاج الإيثانول وفيما يلى سوف نلقى الضوء على التقنيات الجديدة فى مجال الأمور الثلاثة السابق الإشارة إليها:

١- استخدام السيليولوز كمادة خام أولية:

إن إمكانية الحصول على كحول الإيثانول من المواد السيليولوزية يمكن أن يساهم إلى حد كبير فى تقليل تلوث البيئة لأن إنتاج الإيثانول من المواد ذات الأصل النباتى واستخدامه فى وسائل النقل لا ينتج عنه ملوثات بيئية.

ولقد أوضحت جميع الدراسات الاقتصادية أن التكلفة الكلية لإنتاج الإيثانول تعتمد بشكل كبير على سعر المواد الخام الأولية والتى تمثل ما بين ٦٠-٧٠٪ من التكلفة الكلية للإنتاج ولذلك فلابد من البحث عن تقنيات جديدة وتطويرها لإنتاج الإيثانول من مواد رخيصة الثمن مثل المواد اللجنوسيليولوزية.



شكل٦ (٢) ٣: تصور إنتاج الوقود الحيوي من السيليولوز

معالجة المواد السيليولوزية قبل عملية التحلل

قبل تحويل المواد اللجنوسيليولوزية إلى إيثانول فان الجزء السيليولوزي في هذه المواد يجب تحليله بحيث يتحول إلى جلوكوز بقل التخمر بواسطة الميكروبات ، وتعتبر عملية إزالة اللجنين عملية ضرورية حيث وجد أن إزالة كمية كبيرة من اللجنين قبل إجراء التخمر أدى إلى زيادة قابلية المواد اللجنوسيليولوزية إلى الهدم بمقدار٪ ، وفى الحقيقة فان معالجة المواد السيليولوزية هى

المشكلة الرئيسة التي تحول دون استخدامها كمواد أولية لإنتاج الإيثانول وبصفة عامة يوجد أربعة طرق رئيسية للحصول على السكريات القابلة للتخمر إلى إيثانول من المواد السيليولوزية وهى المعالجة بالحمض والمعالجة الإنزيمية أو المعالجة بالحمض والإنزيم معا أو المعالجة البيولوجية وقبل كل ذلك يجب أن يجرى معالجة فيزيائية.

المعالجة الأولية الفيزيائية Physical pretreatment

يعتبر طحن المواد السيليولوزية من أحسن طرق المعالجة الفيزيائية خصوصاً على المستوى الصناعي والهدف من عملية الطحن تقليل حجم الجزيئات بغرض زيادة مساحة السطح المعرض لإنزيمات ، كما أن المعالجة بالبخار (١٨٠-٢٢٠ درجة مئوية) تعتبر طريقة هامة من طرق المعالجة الفيزيائية ، حيث تعمل على هدم مجموعات الأسيتيل وتساعد على التحلل ، وعلى الرغم أن هذه الطريقة أدت إلى تحسين قابلية المواد للتحلل الإنزيمى فإن تطوير هذه الطريقة إلى ما يسمى طريقة انفجار البخار تعتبر أكفاء طريقة فى تحسين تحلل السيليولوز بالإنزيمات ، وقد تم تطوير هذه الطريقة بواسطة الأمريكان باستخدام البخار عند ضغط جوى عالى جدا وفيها يتم فرم الخشب أولا ثم تعريضه لبخار على درجة حرارة ٢٣٠ °م وضغط جوى ٥٠٠رطل / بوصة^{٢} وبعد ذلك يتم سحب المواد بشكل فجائي وسريع من المفاعل مع استمرار التقطيع الميكانيكى ، هذه العملية تؤدى إلى جعل الإنزيمات تعمل بكفاءة عالية جدا وفي تطبيق جديد لهذه التقنية فى السنوات القليلة الماضية استخدمت تقنية البخار لزيادة فاعلية التحلل الإنزيمى الميكروبي فى عمليات التسكير ثم التخمير ، ولقد اعتبرت هذه طريقة جديدة حيث تعالج المواد اللجنوسيليولوزية أولا بطريقة انفجار البخار ثم تعرض لعمليات متعاقبة من التسكير الإنزيمى ثم يتم تخمير السكريات الناتجة ، والهدف الأساسي لهذه الطرق تقليل درجة تبلور السيليولوز وتحليل المواد المعقدة المكونة من السيليولوز والهميسيليولوز ، وقد وجد أن قابلية السيليولوز للهضم تزاد كلما زادت شدة هذه المعالجة الأولية.

أولاً: المعالجة الأولية بالحمض Acid pretreatment

لقد بدأ استخدام التحليل الحمضى للمواد السيليولوزية بشكل واسع بغرض الحصول على الجلوكوز أثناء لحرب العالمية الثانية حيث تؤدى إلى تفكيك السيليولوز والهميسيليولوز واللجنين ومن أهم الأحماض التي تستخدم فى هذا الصدد حمض HCL، H_2SO_4 ، ويجب أن ننوه إلى أن استخدام هذه الأحماض فى المعالجة الأولية تؤدى إلى فقد جزء من السكريات القابلة للتخمر حيث تتحول السكريات الخماسية إلى فورفورال Furfural والسكريات السداسية إلى هيدروكسي فورفورال Hydroxymethyl furfural إذا تمت المعالجة بالأحماض عند درجات حرارة عالية كما أن مركب Furfural فى حد ذاته يعتبر مثبط لنمو الميكروبات مما يمنع عمليات التخمر.

ثانياً: المعالجة الأولية الإنزيمية Enzymatic pretreatment

تعتمد مدى ملائمة التحلل الإنزيمى إلى حد كبير على طبيعة المادة السيليولوزية ومعالجتها قبل التحلل وللتحلل الإنزيمى مميزات بالمقارنة بالتحلل الحمضى والتى يمكن أن نوجزها فيما يلى :

١- زيادة محصول السكر الناتج بواسطة المعالجة الإنزيمية.

٢- انخفاض تكلفة المعالجة بالمقارنة بالمعالجة بالأحماض حيث أن العملية تتم عند الضغط الجوى العادى وعند درجات حرارة منخفضة.

٣- لا يحدث هدم للسكريات الناتجة ولا ينتج عنها مواد سامة نتيجة هدم السكريات والتى قد تعوق عملية التخمر فيما بعد.

وعلى أى حال مازالت التكلفة حتي الأن هى العامل المحدد لتصميم نظام معالجة أولية إنزيمية للمواد السيليولوزية حيث أن مختلف التقديرات أوضحت أن إنتاج الإنزيمات الميكروبية المحللة للسيليولوز تمثل ٥٠٪ من التكلفة الكلية للإنتاج، وعلى الرغم من ذلك فانه يوجد بعض التقنيات التى يمكن استخدامها لتقليل التكلفة منها:

أ- رفع كفاءة السلالات الميكروبية فى إنتاج كميات أكبر من الإنزيمات المحللة للسيليولوز.

ب- توفير الظروف المثلي لإنتاج الإنزيمات.

ج-إعادة استخدام الإنزيم أكثر من مرة.

د-توفير الظروف المثلى لعملية التحلل الإنزيمى أثناء المعالجة.

ثالثاً: المعالجة الأولية بالحمض والإنزيم Acid- Enzyme pretreatment

هذا النظام من المعالجة يتكون من ثلاث خطوات هي

١- إذابة المواد السيليولوزية في محلول حمض الفوسفوريك.

٢- تحليل حمضى متجانس باستخدام حمض الهيدروكلوريك.

٣- تحليل إنزيمي للسيلودكسترينات الذائبة إلى جلوكوز.

ويجب أن ننوه أن في هذه التجربة تم استخدام سيليولوز نقى فى صورة مسحوق وأعطت نتائج جيدة إلا انه قد تظهر بعض التعقيدات إذا استخدمت مادة خام غير نقية مثل نشارة الخشب أو قش الأرز والتى تحتوى على اللجنين بجانب السيليولوز، وعلى أى حال يعتبر الكثير من الباحثين أن هذه التقنية قد تكون بديلا عن استخدام التحليل الحمضى للمواد السيليولوزية للحصول على سكريات صالحة للتخمر إلى كحول إيثانول.

رابعاً: المعالجة الأولية الحيوية Biological pretreatment

مازالت الأبحاث مستمرة من أجل تطوير عمليات تعتمد على استخدام الميكروبات القادرة على تحليل المواد السيليولوزية ، حيث وجد أن الميكروب *Monillia* spp. قادر على إنتاج إنزيمات تحلل

السيليولوز بجانب إنزيمات Xylanases قادرة على تحليل عديدات السكريات الخماسية ، كما وجد أن هذا الميكروب يمكنه أن يخمر سكر الجلوكوز والزيلوز إلى إيثانول، وفى دراسة أخرى تضمنت طريقة حيوية لتسكير قش القمح حيث اعتمدت على نزع اللجنين من القش بطريقة كيمائية بعد طحنه ثم استخدام فطر محلل للسيليولوز هو *Trichoderma veridi* فى التسكير ، ثم تم فصل الفطر عن البيئة بواسطة الطرد المركزي فى الوقت المناسب قبل أن يتغذى الفطر على السكريات التى أنتجها ثم بسترة الراشح ، بعد ذلك تمت عملية التخمير لإنتاج الإيثانول بواسطة الخميرة *Pachysolen tannophylus* التى لها القدرة على تخمير السكريات السداسية والخماسية الناتجة من عملية التسكير إلى إيثانول ، وسوف تكون اقتصاديات عملية تسكير السيليولوز أى تحويله إلى سكر قابل للتخمر من العمليات الاقتصادية والمربحة في المستقبل القريب نتيجة التقدم فى علوم الهندسة الوراثية .

٢- استخدام الحبوب التالفة وبقايا الغربلة كمواد خام

Use of worn-out grains and garble residues

يوجد كمية كبيرة من الذرة والقمح والشعير والتي تتبقي بعد عمليه الفرز والغربلة يمكن استخدامها في إنتاج كحول الإيثانول ، حيث تقدر كمية الإيثانول التي يمكن إنتاجها بحوالي ٢٠٨٠٠٠متر مكعب، وكذلك يوجد بعض حبوب المحاصيل التي لا تصلح للاستخدام الأدمي وبعض المواد النباتية الأخري والتي تشمل قشور الحبوب وأوراق النباتات حيث يمكن أن تستخدم جميع هذه المواد كمواد خام لإنتاج الإيثانول كوقود، وقد وجد أن ٦٦٪ من القمح و٨٠٪ من الشعير الناتج عن الغربلة يمكن أن يستخدم لإنتاج الإيثانول.

٣- إعادة استخدام نواتج التقطير Re-using of distillation products

علي الرغم من استخدام النواتج الثانوية لإنتاج الإيثانول فى علائق الحيوانات إلا أن ذلك لا يتم إلا بعد تكلفة عالية خاصة بإزالة الماء منها بالتبخير، ويوجد الأن عمليتان رئيسيتان يمكن من خلالهما الاستفادة من نواتج التقطير الوسطية فى تغذية الخميرة لأن المواد الغذائية التى تنطلق إلى البيئة الغذائية فى نهاية التخمير وتتركز فى نواتج التقطير لها قيمة غذائية مفيدة لخلايا الخميرة الجديدة التى تنتج أثناء تكاثر الخميرة , كما أن هذه المواد تحسن من عملية تكيف الخميرة مع التركيزات العالية من الإيثانول. أما العملية الثانية فهى إعادة استخدام كل نواتج التقطير السائلة فى تخفيف المهروس الذي سوف يدخل فى التخمير التالى، ويجب بسترة نواتج التقطير على ٧٠ ْم لتجنب مشكلة التلوث التى يمكن أن تحدث من هذه المواد وكذلك يجب تمرير البخار فى كل خطوط الإنتاج، ومما هو جدير بالذكر أن بعض المصانع التى تنتج الإيثانول من المولاس تعيد استخدام ٦٠-٨٠٪ من نواتج التقطير بدون أي تأثير سلبى على إنتاج الإيثانول، حيث أظهرت نتائج بعض

البحوث إلى أن إعادة استخدام نواتج التقطير فى تخمير القمح بنسبة ١٠٠٪ لمدة خمس دورات تخمير متتالية لم تؤدى إلى ظهور أية مشاكل، وحيث أنه يتم استخدام كميات كبيرة من الماء أثناء التخمرات وأن المخلفات عموما عالية فى محتواها من المادة العضوية فإن إعادة تدوير نواتج التقطير تعتبر مفيدة فى تقليل تكاليف الإنتاج وخصوصا فى تخمرات الإيثانول.

٤- استخدام التخمر شبه المستمر

Use of semi-continuous fermentation

لقد كان التخمر المتقطع هو السائد على مدى السنوات الماضية وذلك لسهولة تنفيذه وإمكانية استخدام عمالة ليست على قدر كبير من المهارة وانخفاض تكاليفه ،إلا أن التخمر شبه المستمر يقلل الوقت اللازم للإنتاج كثيرا ويزيد من إنتاجية الإيثانول بمعدل يفوق معدل الإنتاج فى التخمير المتقطع بمقدار ٣-٤ مرات. وبالرغم من ذلك فإن التخمر شبه المستمر لم يتم استخدامه حتى الأن بشكل كبير ، ويستخدم في البرازيل تقنية تدوير خلايا الخميرة فى التخمير المتقطع حيث يتم الحصول على خلايا الخميرة عن طريق الطرد المركزى ثم يعاد تلقيح المخمرات بهذه الخلايا، ويجب أن ننوه إلى أن التخمر شبه المستمر يقلل التلوث بالميكروبات الأخرى ، وفى التخمر شبه المستمر يمكن استخدام تركيزات عالية من السكر فى المادة الخام مما يؤدى إلى زيادة معدل التخمير ، وفى حالة التخمر شبه المستمر فإن حجم المخمر يكون أقل بسبب استخدام تركيزات عالية من السكر ، كما أن عملية استخلاص الكحول عن طريق التقطير تكون منخفضة أيضاً،. ولقد وجد أن إنتاجية الإيثانول عن طريق التخمر شبه المستمر تزيد بمقدار ٢٠٠٪ عن التخمر المتقطع.

٥- استخدام تقنية الخلايا المثبتة **Using of fixed cells technique**

يتم تثبيت الإنزيمات المنتجة على حوامل صلبة فى مجال تقنية الإنزيمات وذلك لزيادة كفاءتها ولتسهيل نقلها وتخزينها وتسمي هذه العملية **Enzyme immobilization** ولكن فى بعض الأحوال وجد أنه هناك مشاكل كثيرة لا يمكن حلها عن طريق هذه العملية ولذلك يفضل فى كثير من العمليات الصناعية ان يتم تثبيت الخلايا الميكروبية نفسها على حوامل صلبة لتلافي مشاكل تثبيت الإنزيمات ، ومن المعروف انه يوجد نوعين من الإنزيمات تفرزها الكائنات الحية الدقيقة هما الإنزيمات الخارجية والإنزيمات الداخلية والتى تظل محتجزة داخل الخلية ، ولكي يتم تثبيت الإنزيمات الداخلية على حوامل صلبة لابد من استخلاصها وتنقيتها وهذه العمليات مكلفة وغير اقتصادية وبالتالى فان حل هذه المشكلة يكون في تثبيت الخلية ككل وهذا مايسمي بال **Cell immobilization** ، ويمكن تلخيص مميزات نظام الخلايا المثبتة فيما يلي :

- تكاليف إنتاج الإنزيمات منخفضة.
- الاستغناء عن عمليات الاستخلاص والتنقية للإنزيمات الناتجة.

- تكون كمية الإنزيم الناتجة من الخلايا المثبتة عالية جدا بالمقارنة بنظام الخلايا الحرة.
- يمكن إعادة استخدام الخلايا المثبتة أكثر من مرة لإنتاج الإنزيم حيث يمكن أن يصل استخدامها إلى أكثر من ٥ مرات.
- يفضل استخدام هذا النظام فى عمليات التفاعلات الحيوية التى تحتاج إلى أكثر من إنزيم.
- ثبات نشاط الخلايا يكون عالي جدا، حيث أن الخلايا المثبتة تتحمل الظروف البيئة غير المناسبة.
- صغر حجم بيئة التخمير في حالة استخدام بيئة الخلايا المثبتة بالمقارنة بحجم البيئة فى حالة استخدام الخلايا الحرة.
- زيادة نشاط الخلايا المثبتة عند التركيزات العالية من المادة الأولية بالمقارنة بالخلايا الحرة وهذا يؤدى إلى تقليل فرصة التلوث.

وعلى سبيل المثال فى إنتاج الكحول ، من المعروف أن كل جرام سكر يعطى تقريا نصف جرام كحول من الناحية النظرية ، فإذا فرض أن هناك محلول يحتوى على ٥٪ سكر وان هناك ميكروب ما يمكنه أن ينتج كحول من هذا المحلول بما يوازي ٩٠٪ من القيمة النظرية فان الكحول الناتج يكون تركيزه حوالى ٢,٢٥٪ وإذا كان تركيز السكر مثلا ٣٠٪ فان نفس الميكروب ينتج كحول تركيزه ١٣,٥٪ ، ولذلك فان زيادة تركيز السكر تعتبر مهمة جدا فى عملية إنتاج الكحول من الناحية الاقتصادية ، ولكن المشكلة هي أن الميكروب المستخدم في عملية الإنتاج لا يستطيع أن يعيش فى تركيز عالي من السكر ، وقد وجد أن حل هذه المشكلة هو التلقيح بميكروبات مثبتة على مواد صلبة ، وبهذه الطريقة يمكن للميكروب أن يتحمل تركيز سكر قد يصل إلى ٤٠٪ أو ٤٥ ٪ وان يتحمل التركيزات العالية من الكحول الناتج.

وفيما يلي خطوات عملية تثبيت الخميرة عند إنتاج كحول الإيثانول بهذه التقنية

١- تحضير ألجينات صوديوم بتركيز ٤-٥٪ (وزن/حجم) ثم تعقم وتترك لتبرد حتى ٤٠-٤٥ درجة مئوي.
٢- يخلط حجم من محلول ألجينات الصوديوم مع حجم مماثل من معلق الخلايا النامية على بيئة سائلة.
٣- يرج المخلوط جيدا ثم ينقط من خلال أنبوبة ضيقه فى محلول كلوريد كالسيوم ٠,٠٥ مول عند درجة حرارة ٣٧ درجة مئوى فيتكون فى الحال كرات تشبه الخرز.
٤- يترك الخرز لمدة ساعة ليتماسك وذلك على درجة ٢٠-٢٢ درجة مئوى ثم يغسل بالماء ويترك لليوم التالي في محلول كلوريد الكالسيوم بالتركيز السابق ذكره على درجة حرارة ٤ درجة مئوي.
٥- يمكن استخدام الخلايا المثبتة بهذا الشكل مباشرة فى عملية الإنتاج.

أيضا يمكن استخدام مادة الكاراجينن فى تثبيت الخلايا وذلك للمميزات التالية:

أ- عملية التثبيت تتم بدون استخدام كيمياويات والتي يمكن أن تؤدى إلى تحطيم الخلايا الميكروبية.

ب- يمكن إذابة الكاراجينن مرة أخرى والحصول على الخلايا وهذا يساعد على دراسة خواص الخلايا بعد عملية التثبيت.

ج- يمكن الحصول على إشكال مختلف من الجل المحتوى على تلك الخلايا مثل المكعبات أو الكرات أو الشرائح.

ويجب أن ننوه إلى أن مادة الكاراجينن غير سامة وموجودة بكثرة حيث تعزل من بعض الأعشاب البحرية وتستخدم بشكل واسع في الصناعات الغذائية كمادة مغلظة للقوام ومنظمة للضغط الأسموزي، وتصبح هذه المادة هلام بالتبريد أو بالخلط مع محلول يحتوي على أيونات البوتاسيوم أو الكالسيوم أو الماغنسيوم أو النحاس أو الحديد، وقد وجد أن خلايا الخميرة المثبتة على الكاراجينن ذات كفاءة عالية جدا فى إنتاج الإيثانول من الجلوكوز.

٦- تخمير المواد الصلبة الذائبة عالية التركيز:

Fermentation of high concentration of soluble solids

تمكن بعض الباحثين من التوصل إلى تخمير بيئات تحتوى على تركيزات عالية جدا من المواد الصلبة الذائبة (أكثر من ٤٠ ° بركس) أي ٤٠ جرام من المواد الصلبة الذائبة / ١٠٠حرام من المحلول ، وهذه التقنية تسمح بإنتاج كميات أكبر من الكحول وبنفس العمالة، وهذا بدوره يؤدى إلى استخدام كميات أكبر من الحبوب ورطوبة أقل مع إنتاج الإيثانول بكميات اكبر، ويمكن باستخدام هذه التقنية إنتاج الإيثانول بتركيز أكثر من ٢٢٪ من حبوب القمح مع استخدام نظام التخمير المتقطع وخمائر معدلة وراثيا حيث تصل أعداد الخمائر فى هذه التخمرات إلى ١.٦× ١٠^٨/ مل، ولقد أمكن تخمير محلول سكرى يحتوى على ٣٥٪ سكروز إلى ١٦٪ إيثانول وذلك عن طريق تغذية الخميرة بشكل دقيق أثناء وإمدادها بكميات كبيرة من النيتروجين تتناسب مع تركيز السكر وبكميات محسوبة من الأكسجين خلال ال١٢ ساعة الأولى من التخمير.

٧- استخدام سلالات ميكروبات جديدة Use of new microbial strains

لا يوجد حتى الأن نوع واحد من الخميرة يمكنه أن يستخدم كل المواد الخام التى تستخدم فى إنتاج الإيثانول. فعلي سبيل المثال فان الخميرة .*Saccharomyces* spp لا تمتلك الجينات التي تنتج الإنزيمات المسئولة عن تحويل المواد الخام إلى سكريات قابلة للتخمر مثل إنزيمات الأميليز أو إنزيمات السيليولوز أو إنزيمات بيتا جلوكوسيديز (إنزيمات اللاكتيز) ، كما أنها أيضاً لا تستطيع إنتاج الإنزيمات التي تهدم السكريات الخماسية ، ولذلك فان الاتجاه السائد الأن فى أبحاث الخمائر هو تطور أو إنتاج سلالات من الخميرة لها القدرة على الاستفادة من عدد متنوع من المواد الخام بمعدلات

سريعة عند درجات حرارة مرتفعة ولها القدرة أيضاً على تحمل تركيزات عالية من السكر ومن الإيثانول الذي تنتجه، ويعتبر تحمل درجات الحرارة المرتفعة صفة هامة جدا بالنسبة للخميرة المستخدمة فى إنتاج الإيثانول وذلك لأن تخمر الإيثانول ينتج عنه كمية كبيرة من الحرارة ، ومشكلة عدم تحمل درجات عالية من الحرارة تعتبر مشكلة خطيرة جدا فى مناطق من العالم والتى يتوفر فيها معظم وأرخص المواد الخام المستخدمة فى إنتاج الإيثانول والتى ترتفع فيها درجات الحرارة الطبيعية أو البيئية، ولقد تمكنت إحدى الشركات فى كندا وهى شركة **Labatt Brewing** أن تطور سلالة من الخميرة تستطيع أن تقوم بالتخمر الكحولى عند درجة حرارة أعلى من ٤٠ درجة مئوية، ولقد تم إنتاج هذه السلالة عن طريق تقنيات التهجين، وعزلت فى البرازيل خمائر تتحمل درجات عالية من الضغط الأسموزي ولها إنتاجية عالية من الإيثانول، كذلك عزلت خمائر متحملة لدرجات الحرارة العالية حيث كان يتم التخمير على درجة حرارة أعلي من ٤٤ °م، وعلى الرغم من ذلك لا توجد أبحاث كثيرة على إنتاج الإيثانول بكميات كبيرة باستخدام هذه الخمائر.

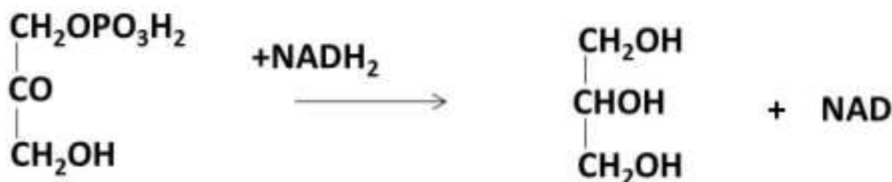
ولذلك تركز الأبحاث حاليا على استخدام الخمائر التى تتحمل درجات حرارة عالية فى إنتاج الإيثانول. ومن حسن الحظ أن الخمائر التى تتحمل درجات حرارة عالية تتوزع فى أجناس مختلفة مثل جنس ***Saccharomyces , Kluyveromyces , Fabospora*** التى وجد أنها يمكن أن تقوم بالتخمر فى درجات الحرارة ٤٠ و ٤٣ و٤٦ درجة مئوية على الترتيب مع إنتاجية عالية من الإيثانول ، ويعتبر البحث عن خمائر تتحمل درجات حرارة عالية عامل هام جدا فى تقليل تكاليف تبريد المخمرات خلال أشهر الصيف فى البلاد شبه الاستوائية والاستوائية ، ولذلك فإن هناك محاولات دائمة للحصول على سلالات من الخمائر تنتج الإيثانول عند درجات حرارة أعلى من ٤٠ °م ، ومن هذه المحاولات نقل صفات تحمل الحرارة العالية من بعض الميكروبات المحبة لدرجات الحرارة العالية إلى سلالات الخميرة ذات الكفاءة العالية فى إنتاج الإيثانول ولكن تظل عملية الاختيار التقليدية للسلالات من بيئات مختلفة هى الطريقة الرئيسية لاختيار الخمائر المحبة للحرارة المرتفعة ، وتتحدد مصادر العينات التى يحتمل أن يوجد بها خمائر تتحمل درجات حرارة عالية فى مصدرين الأول هو الاختيار من خزانات التخمير فى مصانع المشروبات الكحولية والثاني هو العزل من البيئات الطبيعية وخصوصا المناطق الحارة، ولقد تمكن العلماء من عزل سلالات من الخميرة ***Kluyveromyces marxianus*** قادرة على النمو عند ٥٢ ° م وقادرة على التخمير عند ٥٠ °م من إحدى مصانع المشروبات الكحولية فى الهند. كما أن **Ueno** وأخرون سنة ٢٠٠١ م كانوا أول من عزلوا ثمانية سلالات من خميرة ***Candida*** المحبة لدرجات الحرارة المرتفعة من أحد الينابيع الحارة ووجد أن ثلاث من هذه السلالات لها نشاط تخمري عالي عند درجات حرارة ٤٨–٥٥ °م، ولذلك فان هذا هو العمل الأول الذي وجد خمائر يمكن أن تقوم بالتخمر الكحولى فوق ٥١ ° م ، كذلك فان هناك أبحاث مستمرة للحصول على

طفرات من الخميرة .*Saccharomyces* spp معدلة الحمض النووى DNA الموجود فى الميتوكوندريا بحيث أن الإنزيمات الضرورية للنمو الهوائي تكون غير كافية أى أن الخميرة يمكن أن تنمو فى ظروف غير هوائية ، مثال أخر وهو ما يعرف بالخميرة السوبر Super yeast وهى الخميرة *Schwanniomyces alluvius* أو الخميرة *Schw.castellii* ، هذه الخمائر السوبر تمكن العلماء من إنتاجها وهى تمتلك صفة نادرة وهى احتوائها على إنزيمات ألفا أميليز وجلوكو أميليز، وبالتالى فإن هذه الخمائر قادرة على تخمير النشا بشكل مباشر إلى إيثانول دون الحاجة إلى تحويله إلى سكريات قابلة للتخمر أولا ، ولقد حاول العلماء استخدام هذه الخميرة السوبر فى إنتاج الإيثانول بشكل تجارى إلا أنهم اكتشفوا أن هناك مشكلة أخرى هى أن هذه الخميرة لا تتحمل الإيثانول الذي تنتجه عند تركيز أعلى من ٤,٧ ٪ .

وقد أجريت محاولات للدمج الوراثى بين هذه الخميرة السوبر وسلالة من الخميرة .*Saccharomyces* spp التى تتحمل تركيزات عالية من الإيثانول وكانت النتيجة هى الحصول على سلالات لها قدرات متوسطة فى الإنتاج، كذلك استطاع بعض الباحثين أن ينتجوا سلاله من الخميرة يمكن أن تخمر النشا فى وجود ٥٠٪ فقط من مستوى إنزيم الجلوكو أميليز الذي يضاف فى الحالات العادية أى أن هذه السلالة تنتج كمية من الجلوكو أميليز وتوفر ٥٠ ٪ من الكمية المعتاد إضافتها ، وهذه السلالة المعدلة هى إحدى سلالات الخميرة *Saccharomyces diastaticus* والتى تحتوى على جينات تجعل الخميرة قادرة على إنتاج إنزيم جلوكو أميليز ، كما استطاع بعض الباحثين من تعديل خمائر المشروبات الكحولية وخميرة الخباز وراثيا وادخلوا إليها جين بنائي لإنزيم Melibiase وبذلك أمكن للخميرة نتيجة إنتاجها لهذا الإنزيم أن تستفيد من ٢٪ من سكر الرافينوز الموجود فى مولاس البنجر ، ولذلك فإن استخدام هذه السلالات سوف يكون مفيد فى إنتاج خميرة الخبيز وفى إنتاج الإيثانول كوقود من مولاس البنجر ، ومما هو جدير بالذكر أن كل سلالات الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* المستخدمة حاليا فى إنتاج الإيثانول لاتستطيع أن تنمو أو تخمر السكريات الخماسية ولذلك أجريت أبحاث كثيرة على الخمائر التى تتبع جنسي *Candida* و *Pichia* وأعطت نتائج جيدة لاستخدام هذه السكريات فى إنتاج الإيثانول.

إنتاج الكحولات عديدة الهيدروكسيل (الجليسرول) Production of glycerol

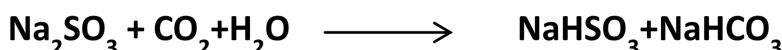
على الرغم من أن إنتاج الجليسرول عن طريق الخميرة يعتبر غير اقتصادي بالمقارنة بعملية إنتاجه كيماويا التى تعتمد على التصبن القلوى للدهون، ولتوضيح كيفية إنتاج الجليسرول فلنتذكر أن الناتج النهائى لعملية تخمر الجلوكوز هو حمض البيروفيك ، وكما هو معروف أن حمض البيروفيك يدخل فى عدة تفاعلات تختلف باختلاف الظروف البيئية والميكروب الذى يقوم بالتفاعل، ومن هذه التفاعلات دخول حمض البيروفيك فى تفاعلات التخمر الكحولى ، وأول خطوة هى نزع مجموعة الكربوكسيل ليتحول إلى أسيتالدهيد ، ولكى يتم إنتاج الجليسرول لابد من التدخل لتعديل مسار التخمر الكحولى بحيث لا يستمر فى إنتاج الكحول ، ويتم هذا التعديل بإيقاف التفاعل عند نقطة الأسيتالدهيد بمجرد تكونه فى الخطوة الأولى ويتم ذلك بعدة طرق منها إضافة مادة بيكبريتيت الصوديوم والتى تكون مركب مع الأسيتالدهيد لا يدخل فى التفاعل ، وبذلك لا يعمل الأسيتالدهيد كمستقبل للأيدروجين فى عملية إعادة أكسدة $NADH_2$ ويختزل إلى كحول ، وبدلا من ذلك يصبح السكر الثلاثى ثنائى هيدروكسي أسيتون فوسفات هو مستقبل الأيدروجين ويتكون الجليسرول كما يلى:



ويوجد بعض أنواع من الخمائر تتميز بقدرتها العالية علي تخمير السكريات وإنتاج الجليسرول مثل:

Saccharomyces cerevisiae* , *Saccharomyces rouxii*,*Torulopsis magnolia **and** ***Pichia farinosa*.**

وفى عملية إنتاج الجليسرول عن طريق التخمر يضاف ميكروب الخميرة فى بيئة تتكون من ١٠-٢٠٪ سكروز، ٠,٥ ٪ نترات أمونيوم، ٠,٠٧٥٪ فوسفات ثنائى البوتاسيوم ،٤٪ كبريتيت صوديوم، أثار من كبريتات الماغنسيوم المائية ويتم التخمير فى مخمرات ذات أحجام كبيرة عند درجة ٣٠° م ولمدة ٦٠ ساعة وأثناء التخمير يتكون غاز ثانى أكسيد الكربون الذى يؤدى إلى تكوين البيكبريتيت وذلك كمايلى:



$$Na_2SO_3 + CO_2 + H_2O \longrightarrow NaHSO_3 + NaHCO_3$$

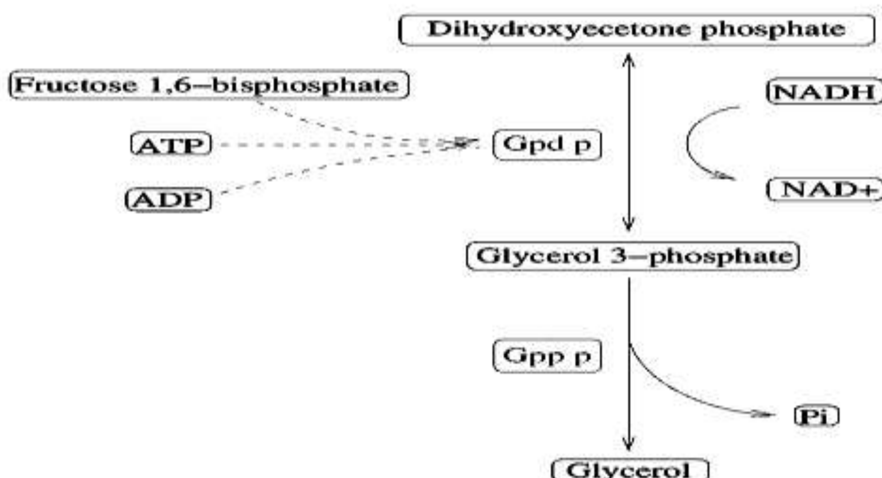
والبكبريتيت المتكون يثبت الأسيتالدهيد فى شكل المركب $CH_3CH(OH)SO_3Na$ الذى يعمل فى نفس الوقت كمادة مانعة لأي ميكروبات ملوثة للبيئة ويجب الحفاظ على pH البيئة أثناء التخمير عند ٦,٨ وذلك بإضافة ثانى أكسيد الكبريت، وعندما يستهلك السكر الموجود فى البيئة يتم حصاد بيئة التخمير ثم يتم ترويق السائل المتحصل عليه ويقطر لإزالة أي كميات من الكحول والأسيتالدهيد ، ثم بعد ذلك يركز السائل ويبرد لإزالة كبريتيت الصوديوم المتبقى عن طريق البلورة، وتسمى هذه الطريقة المستخدمة فى إنتاج الجليسرول بطريقة الكبريتيت الذائب حيث يتم الحصول على سائل متخمر يحتوى على ١٨٪ جليسرول ، وتوجد طريقة أخرى لإنتاج الجليسرول تسمى الطريقة القلوية والتخمير فيها مشابه للطريقة السابقة ولكن يتم فيها الحفاظ على قلوية البيئة عن طريق إضافة كربونات الصوديوم الصلبة بشكل منتظم خلال ال٢٤ ساعة الأولى من التخمر, وهذه القلوية تضمن تثبيت الأسيتالدهيد عن طريق تفاعل Canizaro وبالتالى لا نحتاج إلى إضافة الكبريتيت الذائب، ودرجة القلوية الشديدة هذه تجعل من المهم اختيار سلالات من الخميرة قادرة على هدم الكربوهيدرات تحت هذه الظروف ، ويمكن بهذه الطريقة الحصول على سائل متخمر يحتوى على ٢٥٪ جليسرول ، وعلى أية حال فإن مستويات الجليسرول المتكون أثناء تخمر الإيثانول يتحكم فيها عدد من العوامل أهمها:

- تركيز السكر القابل للتخمر.
- درجة حرارة التخمر.
- سلالة الخميرة المستخدمة فى إنتاج الإيثانول.
- مستوى الأكسجين فى بيئة التخمير.
- قيمة رقم pH محلول التخمير.
- مستويات الأملاح والكبريتيت فى المهروس.

ويستخدم الجليسرول علي نطاق واسع في إنتاج المواد الراتنجية وفي صناعة الأدوية ومعاجين الأسنان وصناعة الصابون .ولقد ظهر الاهتمام في السنوات الأخيرة بإنتاج الجليسرول بالطرق البيولوجية لأسباب تتعلق بصحة الإنسان وأيضاً لارتفاع أسعار المواد الخام المستخدمة في التخليق الكيميائى، ويستخدم الجليسرول فى العديد من الصناعات مثل صناعة الحلويات والأيس كريم وفى صناعة بعض أنواع الورق ومستحضرات التجميل ، ولإنتاج الجليسرول يتم تنمية الخميرة في بيئة تحتوى علي تركيز عالى من الأملاح الذائبة حتى يتكون بداخلها الكحول بكمية كافية ثم تنقل الخميرة بعد ذلك إلي بيئة غذائية بها تركيز منخفض من الأملاح ثم تجرى عملية

تنقية للجليسرول ، حيث يتكون الجليسرول اثناء عملية التخمر الكحولى كمنج ثانوى حيث يتكون ١- ٣ ٪ جليسرول ، ويوضح شكل [٦ (٢) -٤] مراحل التخليق الحيوي للجليسرول.

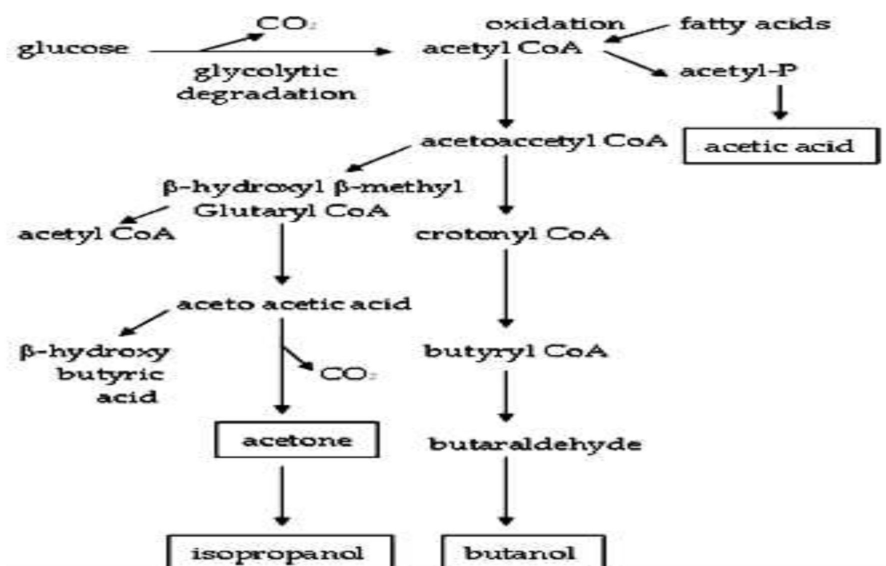
ويستخدم فى إنتاج الجليسرول أيضاً الطحلب المحب للملوحة الذى يسمى *Dunaliella salina* الذى يلجأ إلى تكوين الجليسرول فى الخلايا أثناء نموه فى بيئة عالية الملوحة تتراوح مابين ٥- ١٠٪ كلوريد صوديوم.



شكل ٦ (٢) -٤: مراحل التخليق الحيوي للجليسرول

إنتاج الأسيتون والبيوتانول Acetone & butanol production

يمكن استخدام المخلفات الكربوهيدراتية القابلة للتخمر كمصدر كربونى مناسب في بيئة التخمير حيث يستعمل المولاس بعد تعديل نسبة السكر به إلي ٥-٦٪ مع إضافة كبريتات الأمونيوم وضبط الـ pH عند ٧,٢ وفي بعض الأحيان يمكن استخدام مهروس الذرة بنسبة ٦-٩٪ من البيئة ، ويختلف الميكروب المستخدم في التخمير علي حسب المصدر الكربوهيدراتى في البيئة ، حيث يستخدم ميكروب *Clostridium acetobutylicum* في حالة استخدام مهروس الذرة ، بينما يستخدم ميكروب *Cl. saccharoacetobutylicum* في حالة استخدام المولاس ويوضح شكل ٦ (٢) -٥ مراحل التخليق الحيوي للأسيتون والبيوتانول.



شكل ٦ (٢) –٥: مراحل التخليق الحيوي للأسيتون والبيوتانول

عملية الإنتاج Production procedure

يضاف اللقاح إلي بيئة التخمير بنسبة ٥٪ من حجم البيئة ويتم التحضين علي درجة حرارة ٣٧°م تحت ظروف لاهوائية، ويتم التخمر في حوالى ٣ أيام وينتج مخلوط من المركبات عبارة عن البيوتانول والأسيتون والإيثانول بنسبة ٦ : ٣ : ١ علي التوالى، بعد ذلك تستخلص المركبات الناتجة بالتقطير Distillation ، ويستعمل الأسيتون كمذيب عضوى وفى صناعة المفرقعات وفى تحضير الصموغ، بينما يستعمل البيوتانول فى صناعة البويات والبلاستيك وفى إنتاج الإسترات التى تستعمل كمادة واقية للأسطح.

(الباب السادس-الفصل الثالث)

إنتاج الأحماض العضوية

إنتاج الخل (حمض الخليك) Production of vinegar

تعتبر صناعة الخل من الصناعات القديمة جدا التي عرفها الإنسان، حيث استخدم الرومان واليونانيون الخل المخفف كمشروب منعش Analeptic وذلك بتعريض النبيذ للهواء الجوي. ومعني كلمة(الخل) النبيذ الحمضي ، وقد استخدم الإنسان هذا النوع من التخمر دون معرفة مسبباته، إلي أن جاء باستير عام ١٨٨٦م ودرس هذه الظاهرة بالتفصيل وأثبت أن تعقيم النبيذ يمنعه من التخمر حتى في وجود الهواء، ومنذ ذلك الوقت عرف أن ترك أي محلول به نسبه غير مرتفعة من الإيثانول عند تعرضه للجو يعطي الفرصة لنمو البكتريا الخاصة بأكسدة الإيثانول إلي حمض الخليك ، وتوجد هذه البكتريا بكثرة في الطبيعة وتكثر علي سطح ثمار الفاكهة والخضر والمحاليل السكرية، ويمكن تقسيم بكتريا حمض الخليك إلي *جنسين* هما ***Acetobacter, Gluconobacter*** ، وتعمل أنواع جنس ***Gluconobacter*** علي أكسدة الإيثانول إلي حمض الخليك، ومن أهم السلالات المستخدمة ***Gluconobacter oxydans*** خصوصا في طريقة الإنتاج باستخدام المزارع السطحية حتى عند التلقيح بمزرعة نقيه.أما أفراد جنس ***Acetobacter*** فتعمل علي أكسدة الإيثانول إلي حمض الخليك ثم إلي ثاني أكسيد الكربون والماء، ومن أهم الأنواع المستخدمة علي المستوي التجاري ***Acetobacter aceti***.

مراحل تكوين الخل Stages of vinegar formation

تتم عملية إنتاج الخل علي مرحلتين هما :

١-المرحلة الأولى: وهي التخمر اللاهوائى للمواد السكرية بواسطة الخميرة لإنتاج الكحول الإيثيلي.

٢-المرحلة الثانية: وهي أكسدة الكحول إلي حمض خليك، وتحدث هذه المرحلة تحت الظروف الهوائية بواسطة بكتريا حمض الخليك والتي من أهم أنواعها ***Acetobacter aceti*** .



عملية الإنتاج Production procedure

يمكن استخدام السائل الناتج من تخمر السكريات الموجودة في مخلفات التصنيع الغذائى تحت الظروف اللاهوائية في إنتاج الخل وذلك بعد ضبط نسبة الكحول به إلي ١٠-١٣٪ ، ويستخدم لإنتاج الخل أنواع مختلفة من المخمرات تعتمد علي توفير الظروف المناسبة لأكسدة

الإيثانول إلي حمض خليك حيث يمرر الكحول الذى تركيزه ١٠-١٣٪ والمضاف له المواد الغذائية المناسبة لنمو بكتريا حمض الخليك من أعلى المخمر إلي أسفل حيث يمر علي نشارة خشب Wood sawyer تعمل كحامل لبكتريا حمض الخليك مع توفير التهوية المناسبة حيث يمرر الهواء المضغوط من أسفل إلي أعلى المخمر ، ويجب ضبط درجة الحرارة عند ٣٠°م ، أثناء مرور الكحول علي نشارة الخشب تقوم بكتريا حمض الخليك بأكسدة الإيثانول إلي خل حيث يتم تجميعه من قاع المخمر، والخل الناتج من التخمير يصل به تركيز حمض الخليك إلي ١٠٪ ثم يخفف إلي ٤-٦٪ ، بعد إجراء عملية التعتيق يتم تعبئة الخل في براميل مملوءة تماما لمنع نشاط البكتريا الهوائية التى تقوم بأكسدة الخل إلى ماء وثانى أكسيد كربون ثم تجرى له عملية ترشيح لترويقه ثم يعبأ في زجاجات ويبستر علي درجة حرارة ٦٠- ٦٥ ° م لمدة ٣٠ دقيقة ومن أهم الاعتبارات الواجب مراعاتها عند إنتاج الخل ما يلي:

١- السلالة البكتيرية Bacterial strain

لابد من توافر الشروط التالية في السلالة البكتيرية المستخدمة لإنتاج حمض الخليك:

أ-يجب أن تتحمل تركيز عالي من الحموضة.

ب-يجب أن تتحمل تركيز عالي من الكحول.

ج-يجب أن تكون ذات إنتاجيه عالية.

٢- المواد الخام Raw materials

تشمل المواد الخام المستخدمة لإنتاج الخل بعض أنواع النبيذ والمولت والمواد النشوية، ويجب تخمير المواد الكربوهيدراتية قبل البدء في عمليه الإنتاج ويتم ذلك عن طريق الخمائر الموجودة طبيعياً على هذه المواد الخام أو عن طريق إضافة بادئ منها وخاصة *S. cerevisiae* والتي تعمل على تحسين صفات الخل الناتج.

٣- تركيز الكحول Alcohol concentration

لإتمام عمليه التخمير بنجاح يشترط أن يتراوح تركيز الكحول بين ١٠-١٣٪ ويلاحظ إن انخفاض نسبته إلى أقل من ١-٢٪ يؤدى إلى أكسده حمض الخليك مما يؤدى إلى فقد الخل الناتج للجودة , بينما زيادة تركيز الكحول إلي أكثر من ١٤٪ يقلل من معدل نمو الميكروب وبالتالي من إنتاج الحمض.

٤- التحميض Acidification

يتم ذلك عن طريق إضافة خل سابق غير مبستر كبادئ بنسبه ١٪ تقريبا إلى محلول التخمير المحتوى على الكحول.

٥- الأكسجين Oxygen

عمليه إنتاج الخل من الكحول تتم عن طريق الأكسدة وبالتالي لابد من توافر الظروف الهوائية وتختلف وسائل التهوية حسب طريقه الإنتاج فقد تستخدم الثقوب أو الفتحات في حاله استخدام البراميل أو نشاره الخشب أو تستخدم التهوية الميكانيكية وذلك عن طريق دفع تيار من الهواء المضغوط.

٦- درجه الحرارة Temperature

تختلف درجه الحرارة حسب نوع الميكروب والطريقة المستخدمة وتتراوح الدرجة المثلى ما بين ٢٧-٢٩ ° م، ويلاحظ عند درجات الحرارة المنخفضة ١٢-١٥ °م ينمو الميكروب ببطء شديد وتكون حجم الخلايا صغيره كما يجب تجنب درجات الحرارة المرتفعة حتى لا يتطاير الكحول.

٧- التخزين Storage

يراعي عند تخزين الخل النقاط التالية:

أ- ملء البراميل إلى نهايتها مع قفلها قفلا محكما لجعل الظروف لا هوائيه وذلك حتى لا تنمو بكتريا حمض الخليك الضارة بعد اختفاء الكحول وتعمل على أكسده الخل وبالتالي تحوله إلى ثاني أكسيد الكربون والماء.

ب- بستره الخل قبل تخزينه للتخلص من الكائنات الحية الدقيقة التي تفسده ويتم ذلك على ٦٠-٦٦° م لمدة ٣٠ دقيقه.

ج-تجرى في بعض الأحيان عمليه ترويق لمحلول الخل الناتج للتخلص من الشوائب والمواد غير المرغوبة، وتتم إما بالطرد المركزي أو باستخدام المرشحات.

طرق إنتاج الخل Methods of vinegar production

١-الطريقة البطيئة أو الفرنسية Slow procedure

تعرف باسم الأوعية المفتوحة open vat أو طريقة أورلنز Orleans process حيث يعرض النبيذ لفعل بكتريا حمض الخليك التي تأتى له من الجو الخارجي. وتستعمل لهذا الغرض براميل خشبية حيث يوضع بكل منها حوالي ٥٠ لتر نبيذ وهى موضوعه على أحد جوانبها بغرض تعريض المسطح لأكبر كميه من الهواء، يوضع بها قمع ذو أنبوبه طويلة تصل إلى قاع البراميل حتى لا يؤثر دخول المحلول على الغشاء المتكون على سطح السائل كما يوجد صنبور على أحد جوانب البرميل لخروج الخل، ويتم ملء البرميل لمنتصفه بالمحلول المتكون من خليط من النبيذ والخل غير المبستر بنسب مختلفة ويتم إيقاف عمليه التخمير قبل أن يتلاشى جميع الإيثانول حتى لا تبدأ البكتريا فى أكسدة الخل الناتج ، وتتم أكسدة الإيثانول ببطء نظراً لأنها موجودة فقط على السطح وتعتبر هذه الطريقة مستمرة حتى الأن وذلك لجودة الخل الناتج لاحتوائه على

السترات والألدهيدات المكسبة للطعم والنكهة.

٢-الطريقة السريعة أو الألمانية **Fast procedure**

تم اكتشاف هذه الطريقة بواسطة العالم الألماني **Schutzenbach** في القرن التاسع عشر، وفيها تمكن من زيادة مسطحات المحلول الكحولي المعرض لفعل بكتريا حمض الخليك عن طريق استخدام نشارة الخشب الخشنة كثيرة الالتواءات والتي توجد في أحواض أو أعمده، وتصمم الأحواض بطريقه تسمح بدخول الهواء من القاع ويمر دائريا إلي أعلي خلال المسافات البينية لنشارة الخشب كما فى شكل ٦ (٣) -١، وفي هذه الطريقة تلتصق بكتريا حمض الخليك***Acetobacter schutzenbachii, Acetobacter curvum*** علي سطح نشارة الخشب ، وتتم عملية تحويل المحلول الكحولي بكفاءة عالية إلي حمض خليك وتعتبر هذه الطريقة من أفضل الطرق المستخدمة حتى الأن.

ومن أفضل التحسينات التي أضافتها هذه الطريقة إلي صناعة الخل ما يأتي:

١-التبريد يعتبر من أفضل مزايا هذه الطريقة حيث أنها تعمل علي الاحتفاظ بالحرارة أثناء التخمر وضبط الهواء عن طريق دفعه خلال وعاء التخمير.

٢-المواد المالئة حيث وجد من التجارب والأبحاث أن نوع الخشب المستعمل له أهمية في كفاءة العملية حيث وجد أن أفضل الأنواع هو ما يعرف باسم خشب الزان.

٣-التهوية حيث يدفع الهواء من غرفة التجميع السفلية إلي أعلى.

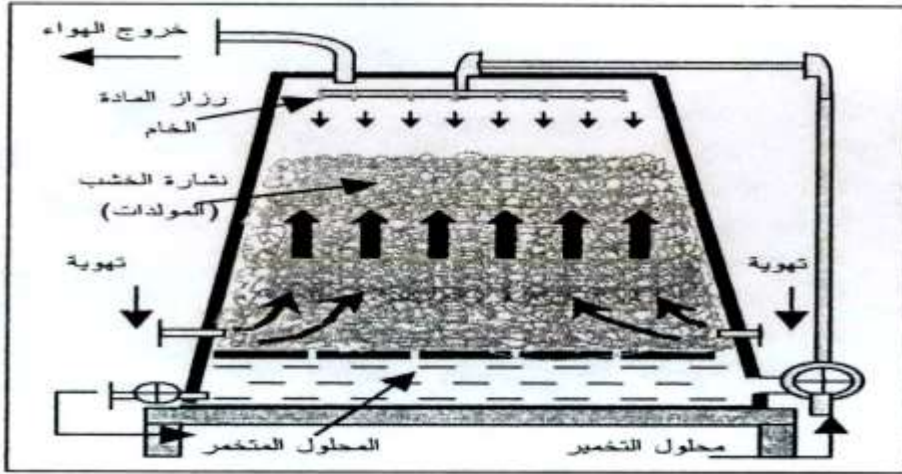
٤-أجهزة الضبط الحراري حيث تصل درجة الحرارة في الجزء العلوي من المخمر حوالي٢٩ °م بينما في الجزء السفلي تكون٣٥ °م.

٥-محصلة الإنتاج حيث يتم تحويل ٨٨-٩٠٪ من الكحول المضاف إلي حمض خليك باستخدام الطريقة السريعة، بينما يستخدم بقية الكحول في تحولات غذائية أخري أو يتم تسربه مع الهواء الخارج من عملية التخمير.

ومن مساوئ هذه الطريقة ما يلي:

١-حدوث تلوث يصعب التغلب عليه إلا بتغيير محتويات المولدات من نشارة الخشب.

٢-وجود نسبه مرتفعة من ثاني أكسيد الكبريت في النبيذ المخزن له تأثير ضار علي بكتريا حمض الخليك عند التصنيع.



شكل ٦ (٣) -١ : يوضح الطريقة السريعة لإنتاج الخل

مشاكل إنتاج الخل Problems of vinegar production

أ- بكتريا حمض الخليك **Acetic acid bacteria** كثيرًا ما تكون بكتريا الخل نفسها هي المشكلة في الإنتاج وذلك لما لبعض أنواعها من أضرار ظاهره مثل ***Acetobacter xylinum*** والتي تتميز بأنها لها قوه تأكسدية عالية وبذلك يفقد الخل الناتج الطعم والرائحة المميزين له.

كما يقوم بتكوين أغشيه لزجه سميكة وعندما ترسب تسد فتحات الجهاز مما يستلزم غسله بما في ذلك نشارة الخشب بواسطة حمض هيدروكلوريك (١عياري) أو كحول مخفف ثم غسله بالماء الساخن، يعاد بعد ذلك تلقيح الجهاز بخل سابق غير مبستر بدءاً لتشغيله.

ب- دودة الخل **Vinegar worm**

وهي تابعه للنيماتودا ويمكن رؤيتها بالعين المجردة، وتتكاثر بسرعة في المحلول وتظهر علي سطح السائل وجدر الأجهزة، ومصدر التلوث بها إما بالحشرات أو أحد مكونات المحلول الغذائي، وتتغذي الدودة علي حمض الخليك والبكتريا نفسها، ولذلك فهي تسبب خسارة كبيرة بالإضافة إلي تقليل قيمة الخل، ويمكن تجنبها بمنع التهوية في أوعية التعبئة وكذلك بإتباع شروط النظافة العامة، كما يمكن قتلها بالبسترة أو إزالتها بالترشيح.

ج- ذبابة الدروسوفيلا

تنمو علي الخل وتتغذي علي البكتريا كما قد تسبب وجودها مضايقات للعمال عند تواجدها بكميات كبيرة، كما أنها تعتبر المصدر الرئيسى في نقل دودة الخل بالمصنع، ويمكن تلافيها بعمل أسلاك علي شبابيك وأبواب المصنع.

إنتاج حمض الستريك Citric acid production

عرف حمض الستريك منذ نهاية القرن التاسع عشر بمادة النبات الطبيعية حيث مصدره ثمار الفاكهة مثل الموالح والكمثري والأناناس وبدأ العلماء منذ عام ١٨٩٣ م بإنتاج حمض الستريك باستخدام الفطريات ، وفي عام ١٩٢٣ م بدأ أول إنتاج لحمض الستريك علي المستوي الصناعي باستخدام المزارع السطحية لفطر *Aspergillus niger* ، وبالرغم من أنه ما زالت هناك مصانع صغيره في المكسيك وجنوب أمريكا تقوم باستخلاص الحمض (الستريك) من ثمار الموالح حيث يحتوي الليمون من ٧- ٩٪ ستريك، إلا أن أكثر من ٩٩٪ من الإنتاج العالمي لحمض الستريك ينتج عن طريق التخمرات الميكروبية، ويستعمل حمض الستريك في عديد من الصناعات الغذائية مثل إنتاج المشروبات الغازية وعصائر الفاكهة ومركزاتها والجبن المطبوخ والحلويات والمثلجات القشدية والمربات والجيلي، بالإضافة إلي استخدامه كإحدى المواد الحافظة في كثير من الصناعات الغذائية. كما يدخل في صناعة الأدوية، حيث يستخدم في صناعة الأملاح الفوارة ، كما يستخدم في صورة سترات الحديد التي تدخل في صناعة العقاقير الطبية كمصدر للحديد، ويدخل أيضا في صناعة الأقراص والمراهم الطبية والكريمات وبعض مستحضرات التجميل. وبجانب ذلك يستعمل نحو ٢٥٪ من الإنتاج الكلي من حمض الستريك في صناعة المواد المانعة للرغاوي Anti-foam التي تستعمل في التخمرات الصناعية ، يدخل حمض الستريك في صناعة المرايا الفضية وأحبار الطباعة وصناعات التعدين بجانب استعماله في تحضير المنظفات الصناعية كبديل للبولي فوسفات التي تعتبر احدي المواد الملوثة للبيئة.

السلالات المنتجة لحمض الستريك Citric acid producer strains

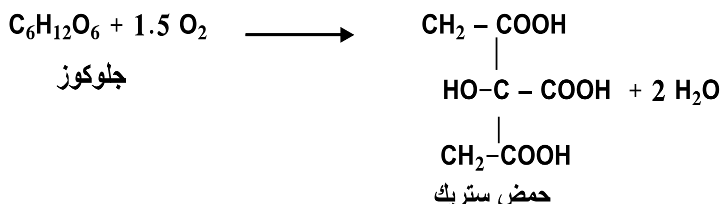
يوجد العديد من سلالات الفطر والخمائر التي تقوم بإفراز كميات ضئيلة من حمض الستريك كمنتج من نواتج الأيض الغذائي الأولي منها:

Aspergillus niger, Asp.wentii,Saccharomycopsis lipolytica بينما علي المستوي التجاري تستخدم طفرات من *Asp. wentii, Aspergillus niger* وبمقارنة هذه السلالات التابعة لجنس *Aspergillus* بمثيلاتها من جنس *Penicillium* ثبت كفاءة سلالات الجنس الأول بالنسبة لمعدل إنتاج حمض الستريك لكل وحده زمنيه، بالإضافة إلي انخفاض تركيز الأحماض غير المرغوبة في المنتج النهائي مثل حمض الأكساليك والأيزوستريك والجلوكونيك.

التخليق الحيوي Biosynthesis

ينتج حمض الستريك في دوره الأحماض ثلاثية الكربوكسيل كناتج من عملية الأيض الغذائي الأولي ويتم تكسير ٨٠٪ من الجلوكوز الذي يعتبر مصدر الكربون الرئيسي المستخدم لإنتاج

حمض الستريك بواسطة العديد من الميكروبات.



شكل ٦ (٣) -٢: إنتاج حمض الستريك من الجلوكوز

المحصول Yield

يستخدم الجلوكوز في مرحلة الأيض الغذائي الأولي لإنتاج كتله حيوية من الهيفات الفطرية وينطلق CO_2 نتيجة عملية التنفس، ثم تبدأ مرحلة الأيض الغذائي الثانوي والتي يتم تحول الجزء الباقي من الجلوكوز إلي أحماض عضويه بالإضافة إلي فقد جزء من هذا الكربون أثناء عملية التنفس، ونظرياً ينتج من كل ١٠٠جم سكروز ١٢٣جم ستريك مائي أو ١١٢ جم ستريك لا مائيا بينما الناتج عمليا ينخفض بكثير عن ذلك نتيجة عمليات الفقد التي تحدث أثناء مرحلة الأيض الغذائي الأولي.

البيئات الغذائية Nutritional media

تتعدد مصادر المواد الكربوهيدراتية التي تستخدم في البيئات التخميرية المعدة لنمو الفطر اللازم لإنتاج حمض الستريك، فقد يستخدم النشا المستخرج من البطاطا أو النشا المحلل أو سترات الجلوكوز أو السكروز بدرجات النقاوة المختلفة أو عصير قصب السكر أو المولاس الناتج من البنجر أو قصب السكر، ففي حالة استخدام النشا في البيئة التخميرية يكتفي بإنزيمات الأميليز المفرزة بواسطة الفطر النامي، وفي حالة استخدام شراب السكر أو النشا المحلل يراعي التخلص من الكاتيونات إما بالترسيب أو بأعمدة التبادل الكاتيوني ويضاف السيانيد إلي المولاس قبل عملية التعقيم للتخلص من المعادن الثقيلة التي تقلل من كفاءة الإنتاج، ويعتبر المولاس من أهم المواد الخام التي تستخدم في إنتاج حمض الستريك ومما هو جدير بالذكر أنه عند استخدام المولاس في عملية الإنتاج يجب مراعاة الأتى :

١- المولاس (مولاس القصب) فقير في محتواه من العناصر الغذائية مثل النيتروجين والفوسفور، لذلك يجب إضافة نترات الأمونيوم بمعدل ١جم/ لتر، وكذلك تضاف فوسفات البوتاسيوم الأحادية بمعدل ٠.٢ جم / لتر ولكن عند استخدام مولاس البنجر لا يضاف أى مصدر للنيتروجين.

٢- يحتوي المولاس علي كمية عالية من المعادن الثقيلة والذى يتم ترسيبها بإضافة سيانيد الحديد.

٣-يحتوي المولاس أيضا علي كمية عالية من الكالسيوم والذى يتم ترسيبه بإضافة أكسالات الأمونيوم.

٤- يجب إضافة كحول الميثانول بتركيز ٤٪ إلي المولاس والذى يعمل علي:

- إيقاف تأثير المعادن الثقيلة المثبطة للفطريات المنتجة لحمض الستريك.
- إضافة الكحول يحد من تكوين حمض الأوكساليك.
- إضافة الكحول يعطى أعلى إنتاج لحمض الستريك.

العناصر الصغرى Microelements

تؤثر العناصر الصغرى مثل النحاس والمنجنيز والحديد والزنك والموليبدنم علي كمية حمض الستريك الناتجة حيث يحتاج إليها بتركيزات لا تتعدي الأجزاء في المليون وزيادة هذه العناصر الصغرى عن هذا الحد لها تأثير سيئ علي الإنتاج، ويلعب الحديد دورا مهما في هذه الصناعة، وتختلف الكميه اللازمة منه للحصول علي أمثل إنتاج باختلاف المادة الغذائية المستخدمة، فعلي سبيل المثال عند استخدام سكر السكروز في صوره نقيه يكتفي بتركيز ٢ جزء في المليون حديد بينما عند استخدام النشا المحلل أو السكر المحول يكفي بتركيز ٠.٢ جزء في المليون وذلك نظرًا لاحتواء المواد الخام علي شوائب من الحديد.

عملية الإنتاج Production procedure

يمكن إنتاج حمض الستريك باستخدام طريقة المزارع السطحية والتي تحتوي علي بيئات غذائية سائله وكذلك باستخدام طريقة المزارع المغمورة والتي تتم في أوعيه تخميرية مهتزة أو عن طريق دفع الهواء داخل أوعية التخمير حيث يصل الحد الأقصى للإنتاج سنوياً حوالي ٥٠٠٠ طن ستريك، ويتحكم في نوع الطريقة المستخدمة للإنتاج عدة عوامل منها رؤوس الأموال، أجور العمال، الطاقة المتاحة لعمليات التشغيل والتبريدCooling، العمالة المدربة علي التحكم وتنظيم العمليات التخميرية.

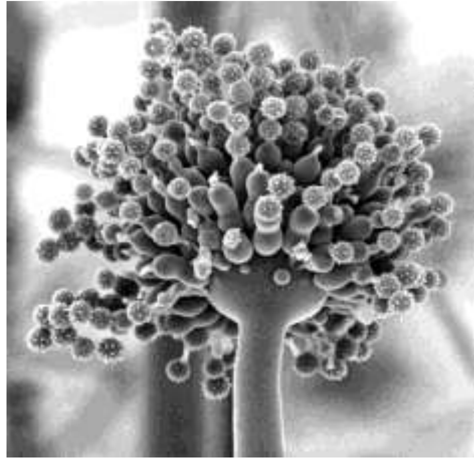
إنتاج اللقاح Inoculum preparation

يستخدم معلق جراثيم الفطر كلقاح في حالة استخدام طريقة المزارع السطحية لإنتاج حمض الستريك، حيث يتم تجهيزها في أواني زجاجيه تحتوي علي بيئة غذائية صلبه ويتم التحضين علي ٢٥ °م لمدة ١٠- ١٤ يوماً، وفي حالة استخدام طريقة المزارع المغمورة لإنتاج حمض الستريك يتم إنبات الجراثيم في محلول غذائي يحتوي علي ١٥٪ سكر (المولاس) مع إضافة أيونات السيانيد وتحضن لمدة ٢٤ساعه علي ٣٢ °م ، حيث يتم إنبات الجراثيم وتتحول إلي كريات الفطر (قطر ٠,٢- ٠,٥ مم) وتستخدم كلقاح في أوعية التخمير المغمورة.

الطريقة السطحية لإنتاج حمض الستريك Surface method

تستخدم نخالة القمح أو لب نشا البطاطا كبيئة غذائية في حالة المزارع الصلبة، وسلالات فطر *Asp.niger* [شكل٦ (٣) -٣] المستخدمة في هذه الطريقة لا تكون حساسة للعناصر النادرة كما في الطرق الأخري، يتم خفض درجة الـ pH في النخالة قبل عملية التعقيم بحيث تصل إلي pH ٤-٥، ثم تلقح بجراثيم الفطر في صواني ضحلة بعمق ٣-٥ سم وتحضن علي ٢٨°م لمدة ٥- ٨ أيام وقد تحتاج هذه العملية إلي إضافة إنزيم ألفا أميليز، ويعتبر استخدام بيئة غذائية سائله في التخمير بالطريقة السطحية من أقدم طرق الإنتاج حيث توضع البيئة الغذائية في صواني مصنوعة من الألومونيوم النقي بعمق ما بين ٥-٢٠سم وتحفظ هذه الصواني علي حوامل في حجرات معقمه، وتحتوي البيئة علي ١٦٠-٢٠٠جم سكروز (أو ٣٢٠-٤٠٠جم مولاس) ٠,٣- ١جم فوسفات كالسيوم أحاديه، ٠,٢- ٠,٥ جم كبريتات ماغنسيوم، ٠,٠١جم كبريتات الزنك لكل لتر، ويتم عقب عملية إضافة اللقاح دفع هواء معقم يمر علي النموات الفطرية ليوفر لها احتياجاتها من الأكسجين ويحفظ درجة الحرارة عند ٣٠ ° م.

ومن العوامل المؤثرة علي إنتاج حمض الستريك بطريقة التخمر السطحي، مساحة سطح الصواني المستخدمة في الإنتاج بالنسبة إلي حجم البيئة المستخدمة في تنمية الفطر، فكلما زادت هذه النسبة زاد معدل تحول السكر إلي حمض ستريك بفعل الإنزيمات الداخلية في هيفات الفطر، وعندما تطفو علي سطح السائل طبقه رقيقة من النموات الفطرية يبدأ انخفاض رقم الـ pH إلي ١,٥- ٢ نظرا لامتصاص هيفات الفطر لأيونات الأمونيا في البيئة الغذائية، تلعب التهوية دورا مهما في عملية الإنتاج حيث ينخفض معدل إنتاج الستريك إذا ارتفعت نسبة CO_2 في الوسط المحيط أكثر من ١٠٪.



٦ (٣) -٣: فطر *Aspergillus niger*

الطريقة المغمورة لإنتاج حمض الستريك

Submerged method for citric acid production

يتم إنتاج ٨٠٪ من الإنتاج العالمي لحمض الستريك باستخدام هذه الطريقة، ولكن يعاب علي هذه الطريقة احتياجها لتكنولوجيا متقدمة للتحكم في الإنتاج وبالتالي إلي أفراد ذات خبرة وكفاءة عالية. تستخدم في هذه الطريقة أوعيه مصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ المقاوم للتآكل بفعل حمض الستريك المفرز بواسطة هيفات الفطر حيث تؤدي المعادن الثقيلة التي تنفرد من جدر الأوعية التخميرية عند وصول درجة الـ pH إلي١ -٢ إلي تثبيط تكوين حمض الستريك.

ويصل معدل التهوية في الأوعية المتخمرة إلي ٠,٢-١حجم هواء/حجم بيئة/ دقيقه وذلك أثناء مرحلة إنتاج الحمض، وللتغلب علي الرغاوي التي تتكون أثناء التخمير والتي قد يصل حجمها إلي ثلث حجم الوعاء يضاف زيت الطعام بمعدل ١سم/ لتر.

العوامل المؤثرة علي إنتاج حمض الستريك

١- السلالة المستخدمة: يجب أن تستخدم السلالة ذات الكفاءة العالية في الإنتاج مثل *Aspergillus niger, Candida lipolytica*.

٢- درجة الحموضة: تتراوح درجة الحموضة الملائمة لإنتاج حمض الستريك من ٢الي ٣ وعندما ترتفع درجة الحموضة إلي ٤-٥ ينخفض معدل إنتاج حمض الستريك.

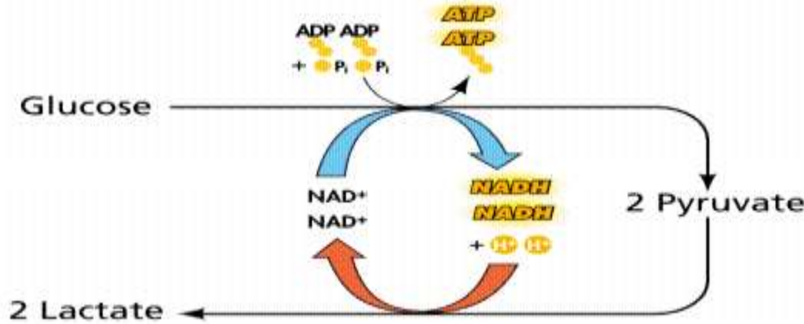
٣- درجة الحرارة: تتراوح درجة الحرارة المثلي لإنتاج حمض الستريك ما بين ٢٥-٣٥°م وإذا ارتفعت درجة الحرارة عن ذلك زاد إنتاج حمض الأكساليك بدلا من حمض الستريك.

٤- مصدري الكربون والنيتروجين والنسبة بينهما: يعتبر كل من السكروز والمالتوز من أفضل مصادر الكربون لإنتاج حمض الستريك، ويتراوح أنسب تركيز من السكر ما بين ١٠الي ٢٠٪ حسب السلالة المستخدمة في الإنتاج، ومن أفضل مصادر النيتروجين هي أملاح النترات والببتون (يضاف النتروجين بنسبه تتراوح ما بين ٠,٠٨-٠,٠٩٪).

وتعتبر نسبة الكربون إلي النيتروجين التي تتراوح ما بين ١:٨ إلي ١:١٢ مناسبة للنمو وإنتاج كتله حيوية وغير مناسبة لإنتاج حمض الستريك نظرا لأن كل الكربون الموجود في البيئة الغذائية سيستخدم في إنتاج الطاقة وبناء الكتلة الحيوية وعدم توفر الكربون اللازم لتراكم حمض الستريك، أما إذا زادت النسبة عن ذلك فإن الخلايا تحول الكربون الزائد عن حاجتها لتخليق حمض الستريك ومن ثم يزداد تراكمه في البيئة الغذائية(نسبة الكربون : النيتروجين المثلي لإنتاج حمض الستريك تتراوح ما بين ١:٧٠الي ١:٨٩).

إنتاج حمض اللاكتيك Lactic acid production

يمكن استخدام المولاس في إنتاج حمض اللاكتيك ولكن يستخدم الشرش بصفة أساسية الذى ينتج من مصانع الألبان في إنتاج حمض اللاكتيك ، والشرش يحتوى علي سكر اللاكتوز بنسبة ٥٪ ، بروتين ، فيتامين ، وأملاح معدنية ، ويستعمل حمض اللاكتيك في الأغذية وفي صناعة الورنيش واللدائن والمنسوجات كما تستعمل مشتقاته في الأغراض الطبية مثل لاكتات الكالسيوم لعلاج نقص الكالسيوم ولاكتات الحديد لعلاج الأنيميا .



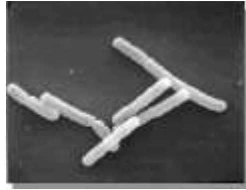
شكل ٦ (٣) -٤: تحول الجلوكوز إلى حمض لاكتيك

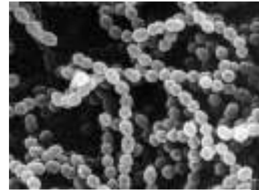
وفيما يلى شرح مختصر لمراحل إنتاج حمض اللاكتيك ميكروبيولوجياً:

١- تجهيز البادئ Inoculum preparation

يتم تجهيز البادئ بتلقيح بيئة اللبن الفرز (١٠٠ مل) بميكروب *Lactobacillus delbrueckii* ss. *bulgaricus* [شكل٦ (٣)- ٥] ويفضل إضافة مستخلص الخميرة والذى يساعد علي سرعة إحداث التخمر ، بعد ذلك يتم التحضين علي درجة حرارة ٤٣°م لمدة ٢٤ ساعة، ثم تنقل محتويات هذه البيئة إلي وعاء به حوالى ٤ لتر من نفس البيئة السابقة، تنقل محتويات هذا الوعاء بعد ذلك إلي تنك من الحديد الصلب مبطن بالزجاج يوجد به حوالى ٥٠ جالون من الشرش المبستر ويحض علي درجة حرارة ٤٣°م لمدة ٢٤ ساعة .







Lactococcus *Lactocbacillus* *Streptococcus*

شكل ٦ (٣) -٥: الشكل المورفولوجي لبعض أجناس لبكتريا حمض اللاكتيك

٢- وعاء التــخمير Fermentation tank

تتم عملية التخمير في وعاء (مخمر) وهذا المخمر ذو حجم كبير بحيث يوضع به ٥٠٠ جالون من الشرش ، ويوجد في قاع المخمر أنبوبة من النحاس مثقبة يمر خلالها بخار لتسخين البيئة إلي درجة الحرارة المطلوبة للتخمير ، ويزود المخمر بمقلب ميكانيكى ويوجد بالمخمر أنبوبة قطرها ٤ بوصة والتى يتم رفعها أو خفضها لسحب محلول لاكتات الكالسيوم الرائق.

٣- عمليــة التخمــير Fermentation procedure

تـتم عمليـة التخميـر للشـرش الملقـح بميكـروب *Lactobacillus delbrueckii* ss.*bulgaricus* علـي درجـة حرارة ٤٣°م لمـدة ٤٨ سـاعة، ويضـاف أثنـاء التخمر الجير فـي صورة معلق إلي البيئة وذلك كل ٦ ساعات ليتم المحافظة علي الحموضة عند ٠.٦٪.

٤- ترشيح السائل المتخـمر Filtration of fermented

يتم تسخين البيئـة المتخمرة علـي درجـة حرارة ٩٦°م لتجميـع بروتينـات الشـرش ، بعدها يسحب السائل الرائق بواسطة أنبوبة وبقوة بواسطة طلمبة طرد مركزى ويمرر علي مرشح ثم يخزن في وعاء ويعالج بواسطة الجير لترسيب الحمض علـى صورة لاكتـات كالسيوم وضبط الحموضـة ثم يتم إزالة اللون باستخدام فحم نشط ، بعد ذلك تجرى عملية رج للمخلوط ثم يترك ١٥ دقيقـة ثم يسحب الرائق ويضخ خلال مرشح ثم يتم تجميع السائل الرائق.

٥- التبخير والبلورة والغسيل crystallization and washing & Evaporation

يتم تركيز السـائل النقـى بـالتبخير ، وبعد ذلـك يضـخ إلـي أوعيـة البلـورة والتـي تتكـون مـن جدار خارجى وجدار داخلى بينهما مواسير للتبريد حيث يتم بلورة لاكتات الكالسيوم بعد ١٢ سـاعة علـي درجـة حـرارة ١٢- ١٥°م ، ثـم يـتم غسـيل لاكتـات الكالسـيوم المتبلـورة بالمـاء ثـم يجـرى لهـا عملية طرد مركزى وتغسل مرة أخرى ثم يبخر ماء الغسيل ، بعد ذلك تنقل البللورات إلـي تنـك مـبطن بالزجـاج وتـذاب فـي مقدار قليـل مـن المـاء علـي درجـة ٦٦°م ، بعـد ذلـك ينقـل الرائـق إلـي مكـبس الترشيح ثم إلي أحواض البلورة. وفي النهاية يتم تقسيم بللورات حمض اللاكتيـك إلـي ثـلاث درجـات علي حسب نقاوتها:

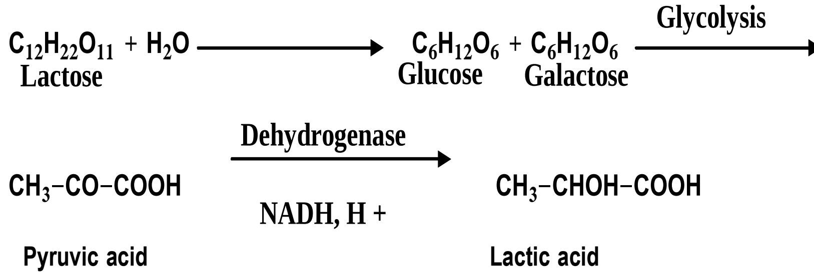
أ-حمض اللاكتيك التجارى.

ب-حمض اللاكتيك المستخدم في التغذية.

ج- حمض اللاكتيك المستخدم في صناعة الأدوية.

ميكـانيكية التخمـــــر Fermentation mechanism

تقوم بكتريا حمض اللاكتيك التي تتبـع أجنـاس **& *Lactobacillus, Lactococcus* *Leuconostoc*** بتحليل سكر اللاكتـوز بفعل إنـزيم اللاكتيـز إلـي جلوكـوز وجـالاكتوز ، ثم تـدخل هذه السكريات فـي دورات تمثيـل غذائي مـن أهمهـا دورة التحلـل الجليكولى **Glycolysis** وتتحـول إلي حمض بيروفيك الذى يتحول بدوره إلي حمض لاكتيك والمعادلات التالية توضح ذلك:



وقد يكـون هذا التخمير مخـتلط **Heterofermentative** مثـل بعض الأنـواع التابعـة لجنس ***Lactobacillus*** مثل ***L. fermentii , L.brevis*** وفـي هذه الحالـة تنـتج البكتربا من تخمـر سكر اللاكتـوز بعض أحمـاض أخرى مثـل الخليـك وكحـولات مثـل الإيثـانول بجانـب حمـض اللاكتيك ، أو قد يكون التخمر متجانس **Homofermentative** مثل كل الأنـواع التابعـة لجنس ***Lactococcus*** والتي تخمر سكر اللاكتوز وتنتج حمض لاكتيك فقط .

إنتاج حمض الجلوكونيك Production of gluconic acid

يعتبر حمض الجلوكونيك **Gluconic acid** شائع الاستخدام فـي النـواحى الطبيـة كمـادة منخفضـة الطاقة **Diet supplement** فـي صورة أمـلاح كالسيوم أو بوتـاسيوم أو زنـك ، وأيضـا تعتبر مادة جلوكونات الكالسيوم من أهم مصادر الكالسيوم فـي غذاء الأطفال والسيدات الحوامـل ، ويستعمل في إعداد بدائل الألبان في الأبقار ، كما يستخدم هذا الحمض بكثرة في تجهيز المنظفات الصناعية ، وينتج هذا الحمض بصورة أساسية باستعمال بعض سـلالات الفطر ***A.niger*** خـلال مراحل تخمر البيئـة السـائلة بالطريقـة المغمورة ومـن الفطريـات الأخرى التـي لهـا القدرة علـى إنتـاج حمـض الجلوكونيـك الفطـر ***Penicillium chrysogenum*** والفطـر ***P.purpurogenum*** وبعض سلالات الفطر ***Pullaria pullulans*** وذلـك باسـتخدام الجلوكـوز كمصـدر كربـونى ، ويـتم تكوين حمـض الجلوكونيك عن طريق أكسدة الجلوكـوز بواسطة إنزيم **Glucose oxidase** خـلال مرحلة التخمر بطريقة مباشرة ولكن يجب أن يكون رقم حموضة البيئة ٦,٠ .

طـرق الإنتاج Production methods

هنـاك عديـد مـن الطـرق المسـتخدمة فـي الإنتـاج الصـناعى لهـذا الحمـض، منهـا طريقـة التخمـر السطحى فـي الصـوانى ، وطريقـة التخميـر العميـق ، وطريقـة الاسطوانات الـدوارة. ويمكـن إنتاج حمض الجلوكونيك بطريقة الخلايا الساكنة أو الإنزيمات الساكنة ، حيث تصل الإنتاجيـة إلـي نحو ٩٣٪ في وجود الأكسجين النقى ، وفي هذه التقنية يتم تسكين ميسليوم الفطر *A.niger* أو إنزيمات جلوكوز أكسيديز Glucose oxidase والكتاليز Catalase علي دعامات مـن الكربـون النشط أو مـن سبيكة مكونـة مـن النيكـل والسيليكا والألومينـا أو مـن الخـزف ، ويـتم حجـز هيفـات الفطر أو الإنزيمـات فـي مـادة هلاميـة مـن البـولى أكريلاميـد أو مـن مـادة 2- hydroxyethyl methacrylate .

ويـتم تجهيـز لقـاح الفطـر المستخدم كمـا فـي حالـة إنتـاج حمـض السـتريك ، وذلـك باسـتخدام سـلالات مـن الفطـر *A.niger* أو مـن الفطـر *P.chrysogenum* ويـتم الإنتـاج التجـارى لحمـض الجلوكونيك باستخدام طريقـة التخمـر السطحى أو العميـق ، إلا أن طريقـة التخمـر العميـق ينـتج عنهـا كميـة كبيـرة مـن الحمـض فـي فتـرة قصـيرة ، ويـتم إنتـاج حمـض الجلوكونيـك فـي صـورتين همـا جلوكونات الكالسيوم وجلوكونات الصوديوم.

أ- إنتاج جلوكونات الكالسيوم Production of calcium gluconate

تنتج جلوكونات الكالسيوم باستعمال طريقـة التخمـر العميق، ثم تتم عمليـة تعـادل الحمـض النـاتج عن طريق ملح كربونات الكالسيوم، ويزداد معدل التخمير بارتفـاع معدل التهويـة، مـع تقليب البيئة التي ينمو عليها الفطر في خزان التخمير، ويجب ألا تحتوى بيئة النمو علـي أكثـر مـن ١٣-١٥٪ جلوكوز، لأن زيـادة تركيز الجلوكوز فـي البيئـة عن ذلك يؤدي إلـي زيـادة تكـوين جلوكونـات الكالسيوم مما يؤدي إلي بلورتها في البيئة وصعوبة فصلها وتنقيتها بعد ذلك.

ب) إنتاج جلوكونات الصوديوم Production of sodium gluconate تسـتخدم جلوكونات الصوديوم في كثير من النـواحى الغذائيـة والعلاجيـة أكثـر مـن جلوكونـات الكالسيوم حيث تتميز بمعدل ذوبانهـا العالى، ولإنتـاج جلوكونـات الصـوديوم تجاريـا تسـتخدم عـادة بيئـة مكونـة مـن جلوكـوز تجـارى، مخلفات صناعة النشا مـن الـذرة، يوريـا، فوسـفات ماغنسيوم، فوسـفات بوتاسيوم، فوسفات أمونيوم لكل لتر بيئة.

ويتم ضبط رقم الحموضـة بعد تعقيم البيئـة، حيث يجب أن يكـون عنـد ٦,٥، ثـم يضـاف اللقاح الفطرى (البـادئ)، ويجب المحافظـة علـي رقـم حموضـة البيئـة خـلال مرحلـة نمـو الفطـر، يـتم التحضين عند حرارة ٣٣-٣٤°م.

استخدامات حمض الجلوكونيك ومشتقاته

Uses of gluconic acid and its derivatives

١) تستخدم جلوكونات الكالسيوم وجلوكونات الحديدوز في تصنيع الأدوية المستخدم لعلاج نقص الكالسيوم والحديد.

٢) يستخدم جلوكونو- دلتا- لاكتون في صناعة مساحيق الخبز.

٣) يستخدم حمض الجلوكونيك في مصانع الألبان كمنظف، ليمنع تكوين أحجار الألبان Milk stones ، كما يدخل في صناعة مركبات تنظيف مصانع الأغذية في وجود الصودا الكاوية ، نظرا لعدم تسببه في تأكل الأوعية المصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ وأيضا الأوعية والوصلات المصنوعة من النحاس أو الألومونيوم .

٤) يستخدم حمض الجلوكونيك في صناعة أحبار الطباعة ودباغة الجلود، وصناعة أفلام التصوير الحساسة للضوء.

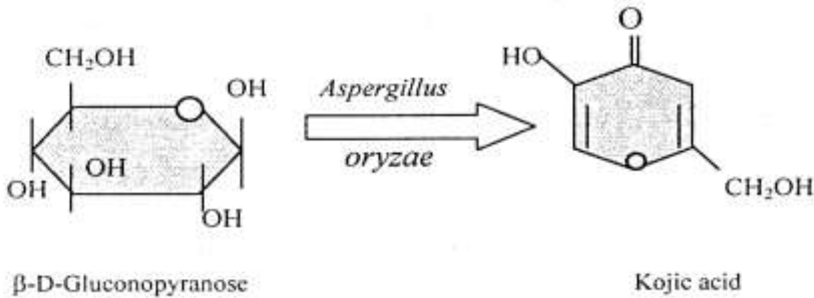
٥) تستخدم جلوكونات الصوديوم في مخاليط صناعة الأسمنت

٦) يستخدم حمض الجلوكونيك في إزالة صدأ الحديد القلوي.

٧) تستخدم جلوكونو- دلتا- لاكتون كمادة لخفض رقم الـ pH فى كثير من عمليات التصنيع الغذائي وخاصة صناعة الجبن .

إنتاج حمض الكوجيك Production of kojic acid

حمض الكوجيك له استخدامات على المستوى التجارى حيث يستخدم فى صناعة البلاستيك والورق كمادة محسنة للنكهة فى بعض الأغذية، وينتج هذا الحمض منذ زمن طويل عن طريق التخمر المباشر للجلوكوز حيث يتم الحصول على ٧٠-٩٠٪ من المنتج بواسطة *Aspergillus flavus, Aspergillus oryzae* والمعادلة التالية توضح كيفية إنتاج حمض الكوجيك:



شكل ٦ (٣) -٦: إنتاج حمض الكوجيك

كما يمكن إنتاج حمض الكوجيك من البيروفات أو الجليسرول أو الأسيتات أو الإيثانول وتتشابه ظروف إنتاج الحمض مع ظروف إنتاج حمض الستريك، كما يمكن لبعض السلالات تحويل حمض الستريك أو الإيتاكونيك Itaconic إلى حمض كوجيك وجدير بالذكر أن هذا الحمض يتميز باللون الأحمر.

إنتاج حمض الإيتاكونيك Production of itaconic acid

تم اكتشاف حمض الإيتاكونيك أول مرة عام ١٩٣١ م حيث وجد كمنتج أيضى فى مزرعة لفطر *Aspergillus itaconicus* وبعد ذلك تم اكتشاف بعض السلالات التابعة لفطر *Aspergillus terreus* والتى لها القدرة على إفراز حمض الإيتاكونيك بكفاءة أكبر من الفطر الأول، وحالياً تستخدم طفرات من السلالتين السابقتين لإنتاج الحمض على المستوى التجارى. وتعتبر المصانع المنتجة لهذا الحمض قليلة على مستوى العالم, حيث يوجد مصنعان فى غرب أوروبا ، ومصنع واحد فى كل من أمريكا وروسيا واليابان، يستخدم حمض الإيتاكونيك أساسا فى صناعة البلاستيك كما يدخل فى صناعة ورق الحائط والمواد اللاصقة، وبالتالى يمكن استخدامه فى صناعة السجاد, الألياف الصناعية، الراتنجات الصناعية وتجهيز أحبار الطباعة.

التخليق الحيوى Biosynthesis

يتم تخليق حمض إيتاكونيك من خلال دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل وذلك عن طريق نزع مجموعة الكربوكسيل لحمض Cis-aconotic وهناك مسار أخر لتخليق حمض الإيتاكونيك حيوياً من حمض البيروفيك عبر Citraconic acid Citramalic acid, and Itatartaric acid ويعتبر حمض السكسينك وحمض إيتاطرطريك Itatartaric acid من النواتج الثانوية غير المرغوبة، ولذلك تضاف أملاح الكالسيوم إلى بيئة نمو الفطر وذلك لتثبيط فعل إنزيم Itaconic oxidase الذى يعمل على تكوين حمض إيتاطرطريك وبالتالى يؤدى إلى زيادة المحصول من الحمض المنتج .

إنتاج حمض الإيتاكونيك على النطاق التجارى

يتم إنتاج حمض الإيتاكونيك على المستوى التجارى باستخدام طريقة المزارع المغمورة وذلك باستخدام أوعية مصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ ويستعمل المولاس وأملاح الأمونيوم أو نقيع الذرة كمصدر للكربون والنتروجين، ويتراوح رقم الحموضة ما بين ٥-٧ وذلك باستخدام فطر *Asp. terreus* ، ورقم الحموضة الأمثل لإنتاج الحمض إلى ٣-٤ ويصل أقصى نشاط للفطر عند رقم pH ٢,٠٠ ويلاحظ أن يكون تركيز السكر فى بداية عملية التخمير ١٠٠-١٨٠ جرام لكل لتر بيئة، وفترة انتهاء التخمير تستغرق حوالى ٧٢ ساعة مع مراعاة التهوية

المناسبة ، كما أمكن إنتاج حمض الإيتاكونيك باستخدام طريقة المزارع المستمرة حيث يستمر التخمير لمدة أسبوعين، وقد أظهرت النتائج تفوق هذه الطريقة حيث تمثل التكاليف الكلية حوالى ٨٠٪ من تكاليف الإنتاج باستخدام التنمية بنظام الدفعة الواحدة.

الاستخلاص Extraction

يتم الحصول على حمض الإيتاكونيك عن طريق ترشيح السائل المتخمر الناتج بعد انتهاء فترة التخمير والتخلص من الكتلة الحيوية للميسيليوم، ويستخدم الكربون النشط لإزالة اللون ثم إعادة الترشيح ويتم الحصول على بلورات حمض الإيتاكونيك عن طريق التسخين حتى التبخير مع التقليب المستمر.

(الباب السادس-الفصل الرابع)

استخدام الكائنات الحية الدقيقة لإنتاج المركبات عديدة التسكر

Using of microorganisms for polysaccharides production

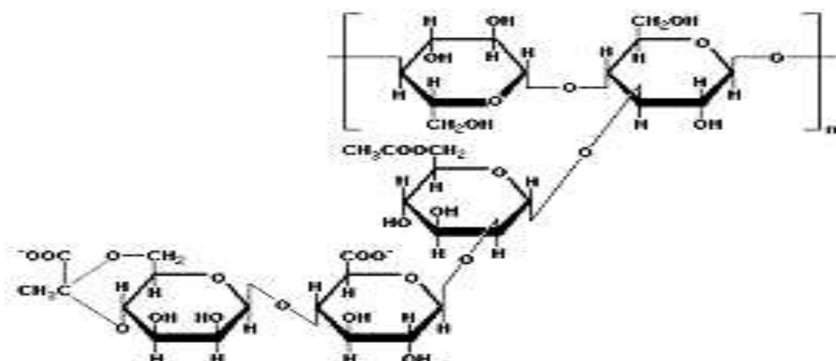
يوجد الكثير من السكريات العديدة التى تفرز خارج الخلايا الميكروبية وتختلف من ناحية التركيب والبناء، وتتميز بعض البوليمرات بتشابه كيماوى كبير مع مكونات الجدار الخلوى، بينما الأغلبية العظمى منها ليس له علاقة بالمكونات الخلوية. وتستخدم السكريات العديدة على المستوى التجارى لإنتاج الجل وإعطاء اللزوجة والثبات فى بعض الأغذية، كما تدخل فى صناعة العقاقير الطبية وتستخدم فى عمليات التنقيب عن البترول (العمليات الاستكشافية)، وبالرغم من استخدام السكريات العديدة النباتية الأصل مثل النشا والألجينات والأجار منذ عدة سنوات إلا أن السكريات العديدة الميكروبية بدأ استخدامها منذ عام ١٩٦٠ م ونظرا لارتفاع تكلفة الإنتاج فيقتصر الإنتاج على الأنواع التى تفرز خارج الخلايا الميكروبية.

إنتاج الزانثان Xanthan production

يعتبر الزانثان أول عديد تسكر تم إنتاجه على المستوى التجارى بواسطة *Xanthomonas campestris* حيث تم اكتشاف هذا الميكروب عام ١٩٥٠م عندما لوحظ وجود مستعمرات مخاطية لونها أصفر على البيئات الصلبة، ينتج هذه الميكروب سكريات عديدة ذائبة فى الماء عند نموه بطريقة المزارع الصلبة والمزارع المغمورة، وتتكون الوحدة البنائية المكونة للزانثان من سكريات سداسية تحتوي على الجلوكوز والمانوز وحمض الجلوكويورونيك.

تعتبر السلالات المستخدمة لإنتاج الزانثان غير ثابتة وتكون نوعين من المستعمرات صغيرة وكبيرة، ينتج النوع الأول صمغا قليل الجودة بينما يعطى محصولا وفيرا، تحتوى البيئة التخميرية المستخدمة لإنتاج الزانثان على٢-٤٪ كربوهيدرات (جلوكوز، سكروز، نشا الذرة المحلل) ٠,٥ -٠,١ ٪ نيتروجين (مستخلص خميرة، ببتون، نترات أمونيوم أو يوريا) بالإضافة إلى الأملاح المعدنية، ويتم ضبط الـ pH عند ٧,٠ ويبدأ ظهور اللزوجة أثناء اليوم الثانى (الطور اللوغاريتمى) من زراعة الميكروب باستخدام التغذية بطريقة الدفعة الواحدة وتستمر حيث تزداد بزيادة النمو. ويؤثر نقص الأمونيوم فى بيئة التخمير المستخدمة للإنتاج بطريقة التخمر ذات الدفعة الواحدة على تركيب البوليمر الناتج وكذلك دلائل اللزوجة وتصل كفاءة إنتاج الزانثان من الكربوهيدرات المستخدمة إلى ٧٠-٨٠٪ (وزن / وزن)، ويمثل المحصول الناتج ٢٠-٣٠ جم/ لتر، ويتم الحصول على الزانثان بعد انتهاء فترة التخمير بالمذيبات العضوية مثل الأيزوبربانول أو

الميثانول بهدف ترسيب البوليمر، ثم يتم تجفيف الراسب وطحنه وتعبئته ثم يعاد استخلاص الأيزوبروبانول المستخدم بهدف تقليل تكلفة الإنتاج.



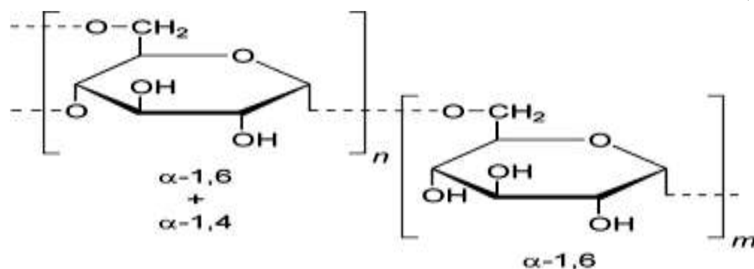
شكل ٦ (٤) -١: التركيب البنائى للزانثان

ويتميز الزانثان بوزن جزيئى عالى يتراوح من٢-٢.٥ مليون، درجة ذوبان عالية حتى فى الماء البارد، درجة ثبات على مدى واسع من pH تتراوح ما بين ٢.٥-١١ ودرجات حرارة من ١٠-٩٠ °م.

ويستخدم الزانثان فى صناعة الأدوية ومستحضرات التجميل وصناعة الورق والدهانات والنسيج واستخلاص البترول، كما يلعب دورا مهما فى بعض الصناعات الغذائية حيث يدخل فى صناعة المربى والأيس كريم والعصائر.

إنتاج الدكستران Dextran production

تضم البكتريا المنتجة للدكستران بعض الأنواع التابعة لجنس ***Leuconostoc*** مثل ***L.mesenteroides*** ، ***L. dextranicum*** ، ويعتبر السكروز هو السكر الأمثل لإنتاج الدكستران , ويستخدم على المستوى التجاري النوع ***L.mesenteroides*** لإنتاج دكستران يحتوى على ٩٥٪ روابط جليكوسيدية من النوع α -1,6 و ٥٪ روابط ألفا α -1,4.



شكل ٦ (٤) -٢: التركيب البنائى للدكستران

استخدامات الدكستران Uses of dextran

١- يستخدم فى مرحلة الاستخلاص الثانوية للبترول وذلك لسهولة ضخ البترول.

٢- يستخدم فى عمليات طلاء المعادن.

٣- صناعة خيوط العمليات الجراحية، معاجين الأسنان لقدرة الجسم على تمثيلها.

٤- إكساب المواد الغذائية درجة من اللزوجة.

٥- يستخدم الدكستران ذو الوزن الجزيئى المنخفض فى الصناعات الدوائية.

٦- يستخدم الدكستران كبديل لبلازما الدم ، يتميز الدكستران الناتج من السلالة *L.mesenteroides* والمستخدم كبديل لبلازما الدم بدرجة ثبات عالية لحرارة التعقيم، كما لا يتوقف استخدامه على فصيلة دم المستقبل وليس له أثار جانبية.

استخدام التخمر التقليدى لإنتاج الدكستران

تستخدم بيئة غذائية ملائمة لنمو ***L. mesenteroides*** تحتوى على ١٧٪ سكروز، مستخلص خميرة أو منقوع الذرة كمصدر للنتروجين والفيتامينات، هذا بالإضافة إلى فوسفات الأمونيوم أو البوتاسيوم، ويتم ضبط درجة الـ pH عند ٧ ودرجة حرارة التحضين عند ٢٥ °م لمدة ٣٦ ساعة وتكون معدلات التهوية بسيطة حيث أن الميكروب المستخدم محب للأكسجين بكمية قليلة أو يتم الإنتاج بدون تهوية وتمر فترة التخمير بثلاث مراحل وهى:

١- مرحلة نمو الميكروب.

٢- مرحلة إنتاج الإنزيم.

٣ - مرحلة تأثير الإنزيم على السكروز.

تستمر مرحلة النمو لعدة ساعات يتم خلالها تخليق كميات قليلة من الإنزيم يستدل عليها بتحويل السكروز إلى دكستران، وبعد انتهاء مرحلة النمو يتم تحويل ٩٠٪ من السكروز وذلك بعد ٢٠ ساعة من بداية التخمير، ونظرا لأن التفاعل من النوع المنتج للحرارة لذا يلاحظ ارتفاع فى درجة الحرارة بالإضافة إلى انخفاض فى درجة ال pH حيث تصل إلى ٤,٨- ٥ وذلك نتيجة لتكون بعض الأحماض العضوية مثل حمض اللاكتيك، بعد انتهاء فترة التخمير يتم استخلاص الدكستران عن طريق ترسيبه بالميثانول وفصله بالطرد المركزى أو الترشيح، ثم يذاب الدكستران المترسب ويعاد استخلاصه مرة أخرى بالميثانول وذلك بغرض التخلص من الشوائب العالقة الناتجة من الترسيب الأول، ويعرف الدكستران الناتج بالدكستران الخام حيث يتم تحلله مائيا أو تجزئته بغرض إنتاج الدكستران الطبى (وزن جزيئى منخفض) وذلك بواسطة إضافة حمض الهيدروكلوريك مع التسخين بالحرارى على ١٠٠-١٠٥ °م لمدة تتوقف على درجة

اللزوجة المطلوبة، ويستخدم هيدروكسيد الصوديوم للتحكم فى إنهاء وقت التفاعل وبالتالى التحكم فى درجة اللزوجة. وللحصول على الدكستران الطبى فى صورة جافة يتم إذابة الدكستران الطبى وتمريره خلال مرشحات خاصة ثم التجفيف على درجة حرارة ٩٢ ْم لمدة ٥ ثوانى وذلك من خلال مجفف الرذاذ، يتم تعبئة الدكستران المستخدم كبديل لبلازما الدم بعد إعادة ذوبان الدكستران الطبى المتحصل عليه بحيث نحصل على تركيز ٦٪ ثم يضاف إليه محلول كلوريد صوديوم ٠.٠٠٩٪ ثم يعبأ فى زجاجات خاصة للبلازما يتم تفريغها من الهواء وتعقيمها بالحرارة وتكون مجهزة للحقن، وجدير بالذكر أنه يمكن إتمام عملية التحليل المائي باستخدام الأحماض أو بالإنزيمات أو باستخدام الموجات الفوق صوتية.

إنتاج الألجينات Alginate production

الميكروبات المنتجة للألجينات تتضمن أنواعا بكتيريه مثل *P. aeruginosa, p. putida, P. fluorescens* وكذلك *Azotobacter vinelandii* هذا بالإضافة إلى الطحالب البحرية البنية والتى تعتبر المصدر الأساسى للألجينات التجارية، ومن أهم الدول المنتجة للألجينات الولايات المتحدة الأمريكية وفرنسا والمملكة المتحدة والنرويج.

استخدامات الألجينات

تأتى أهمية الألجينات من أن لها خواص جيلاتينية غروية تجعل لها استخدامات عديدة منها:

- صناعة الجلى والأيس كريم.
- تضاف لبعض المواد الغذائية كمواد محسنة للطعم.
- تستخدم كمواد تغطية (مغلفة) فى بعض منتجات الحلوى لمنع التصاقها.
- تشجع الإنبات بدرجة ملحوظة فى بعض النباتات.
- تدخل فى بعض الصناعات الدوائية والورقية وفى طلاء الأسنان.

إعداد اللقاح وبيئة التخمر

يتم إعداد اللقاح بتنمية الميكروب على بيئة صلبة تحتوى على ٢٪ سكروز بالإضافة إلى ١٥ جم أجار حيث تستخدم هذه البيئة بعد الحصول على نمو كافى من اللقاح بعد ذلك فى تلقيح بيئة الإنتاج السائلة، وتحتوى بيئة التخمير الأساسية على ٢٪ سكروز، ٠,٢٪ أسيتات صوديوم ،٠,١٢ ٪ فوسفات بوتاسيوم القاعدية K_2HPO_4 ، ٠,٠٣٪ فوسفات بوتاسيوم الحمضية KH_2PO_4 ، ٠,٠١٥٪ كبريتات كالسيوم $CaSO_4$ ، ٠,٠١٪ كبريتات الماغنسيوم $MgSO_4$ ، ١,٥ مجم كبريتات حديدوز $FeSO_4$ ، ٠,٧٥ مجم موليبدات صوديوم $NaMoO_4$ ثم يتم ضبط pH عند ٦,٥ ، وبعد انتهاء فترة التخمير يتم الترسيب بإضافة كحول الأيزوبروبانول

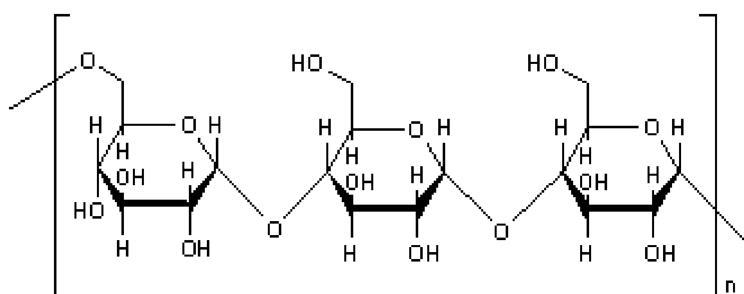
بتركيز ٩٥٪ ثم عمل طرد مركزى، يجفف الراسب بعد ذلك على درجة ١٠٥ ° م حتى ثبات الوزن.

الإنتاج الطحلبى للألجينات

يتم استخلاص الألجينات من الطحالب البنية بواسطة حمض معدنى مخفف لتحويل الألجينات إلى حمض الألجينك وإزالة المانيتول والأملاح المعدنية، يطحن الطحلب مع إضافة محلول قلوى يعادل حمض الألجينك حيث يتحول إلى ألجينات ذائبة وعندئذ يتم التخلص من المواد السيليولوزية غير الذائبة بالترشيح أو الطرد المركزى ثم تعامل الألجينات مرة ثانية بحمض لترسيب الألجينك حيث يغسل ويجفف ويطحن للحصول على الجزيئات المطلوبة.

إنتاج البوليولان Pullullan production

البوليولان عبارة عن جلوكوز مرتبط بروابط جليكوسيدية α -1,4 وقليل منها 1,6- α نتج بواسطة فطر *Pullularia pullulans* من محلول يحتوى على ٥ ٪ جلوكوز وبكفاءة إنتاجية تصل إلى ٧٠٪ خلال مدة تخمير تصل إلى خمسة أيام ، وبدراسة فسيولوجيا إنتاج البوليولان المنتج بواسطة فطر *Pullularia pullulans* على بيئة تحتوى على ١٤٠ ملليمول جلوكوز، ٤.٥ ملليمول سلفات أمونيوم. ويوجد مواد تكونها بعض الفطريات تستعمل كمواد لاصقة وقابلة للذوبان فى الماء مثل مادة الفوسفومانان Phosphomannan حيث يكونها بعض أفراد الخميرة التابعة لجنس *Hansenula* ، هذا بالإضافة على بعض الخمائر التابعة لأجناس *Pachysolen, Pichia* حيث تنتج المركب السابق خارج خلاياها ويتميز بمقاومته لفعل الأحياء الدقيقة, هذا بالإضافة إلى استخدامه كمادة تزيد من قوام المحاليل وتعمل كمادة ناشرة .



Poly[6)-α-D-glucopyranosyl-(1→4)-α-D-glucopyranosyl-(1→4)-α-D-glucopyranosyl-(1→]

شكل ٦ (٤) ٣: التركيب الكيميائى للبوليولان

إنتاج الكوردولان Curdulan production

ينتج ميكروب *Alcaligenes faecalis var myxogenes* نوعين من البوليمر ٣,١ جلوكان هما الكوردولان والسكسينوجلوكان ، والكوردولان عبارة عن بوليمر بسيط من الجلوكوز بينما يحتوى السكسينوجلوكان على جلوكوز، ١٠٪ حمض سكسنيك وجلاكتوز، ويصل معدل إنتاج الكوردلان إلى ٤٠ جم/ لتر عند استخدام بيئة غذائية تحتوى على ٨٪ جلوكوز بالإضافة إلى المواد الغذائية الأخرى ولفترة تحضين ٨٠ ساعة. ونظرا لأن الكوردولان عديم الذوبان فى الماء، لذلك لا يلاحظ زيادة فى لزوجة المحلول التخميرى أثناء الإنتاج، بينما تظهر زيادة فى اللزوجة عند إنتاج السكسينوجلوكان باستخدام بيئة غذائية تحتوي على ٤٪ جلوكوز وتصل كفاءة الإنتاج إلى ٣٥٪.

إنتاج السكليروجلوكان Scleroglucan production

السكليروجلوكان عبارة عن بوليمر من وحدات من سكر الجلوكوز مرتبطة ببعضها بروابط جليكوسيدية من نوع β ‎-1,3‎ وأحياناً β ‎-1,6‎ وينتج بواسطة *Sclerotium glucanicum, Sc. delphinii, Sc. rolfsii* عند نموها على بيئة تحتوى على مواد لجنوسليولوزية محللة ويستخدم هذا البوليمر فى إنتاج الغذاء واستخلاص البترول.

وتتأثر كمية السكليروجلوكان الناتج عن طريق التخمير بمكونات البيئة الغذائية، حيث يتم إنتاج البوليمر بواسطة *Sc. rolfsii* فى بيئة تحتوى على الجلوكوز مع وجود نقص فى النترات، وتتم عملية الترسيب والتنقية والتجزئة إنزيمياً للبوليمر الناتج .

(الباب السابع-الفصل الأول)

دور الكائنات الحية الدقيقة فى الألبان ومنتجاتها

Role of microorganisms in milk and their products

اللبن الخام (الحليب) كبيئة غذائية Raw milk as a nutritional medium

بداية يجب ان ننوه إلى ان كلمة لبن هنا تعنى الحليب، خاصة وان بعض الدول العربية تطلق كلمة لبن على البن المتخمر على خلاف ما جاء فى القرأن الكريم فى قوله تعالى (وَإِنَّ لَكُمْ فِي الْأَنْعَامِ لَعِبْرَةً نُسْقِيكُمْ مِمَّا فِي بُطُونِهِ مِنْ بَيْنِ فَرْثٍ وَدَمٍ لَبَنًا خَالِصًا سَائِغًا لِلشَّارِبِين) ، ويتكون اللبن (الحليب) بالغدد الثديية بضرع الحيوان وهو يحتوى على جميع العناصر الغذائية اللازمة للنمو ، لذلك فهو بيئة غذائية صالحة لنمو وتكاثر الكثير من الميكروبات ، حيث يحتوى اللبن فى المتوسط على ٨٧٪ ماء ، ٥٪ سكر لاكتوز ٣٪ بروتين (كالكازين والألبيومين) ،٣,٥٪ دهن بالإضافة إلى حوالى ١٪ عناصر معدنية من أهمها الكالسيوم وبعض الفيتامينات مثل A,E,K,B,C والإنزيمات مثل الكتاليز والليبيز والفوسفاتيز ، واللبن متعادل التأثير ذو pH حوالى ٦,٧.

محتوي اللبن من الميكروبات

اللبن المتكون بضرع الحيوانات السليمة يكون خالياً من الميكروبات ويبدأ التلوث عند خروجه من الضرع، من قناة الحلمة حيث يتسرب إلى اللبن عدد من الميكروبات من فتحة الحلمة تتراوح من عدة مئات إلى عدة ألاف / مل لبن، وهى ميكروبات غير مرضية أغلبها تابع للأنواع التالية *Micrococcus , Lactococcus* لذلك ينصح باستبعاد الكميات الأولى من عملية الحليب أما إذا كان الحيوان مصاباً بالتهاب الضرع فإن عدد الميكروبات باللبن المنتج يزيد كثيراً.

مصادر تلوث اللبن Sources of milk contamination

يتعرض اللبن للتلوث بالكثير من الميكروبات من بكتريا وخمائر وفطريات وذلك منذ حلبه حتى استهلاكه، ويتوقف نوع وعدد الميكروبات الملوثة للبن على ظروف الحيوان، طريقة الحليب، جو الإسطبل والتخزين عقب الحليب، لذلك نجد أن اللبن عرضه للتلوث Contamination والفساد Spoilage بالميكروبات

حيث تتوقف جودة اللبن المنتج على ظروف إنتاجه، وعدد ما يحتويه من ميكروبات، ومن أهم مصادر تلوث اللبن ما يلى:

١- جلد الحيوان Animal skin

من المؤكد انه لايمكن الحصول على ألبان نظيفة من حيوانات غير نظيفة حيث أن ملايين من الخلايا البكتيرية تنتقل إلى اللبن بواسطة جزيئات صغيرة من القاذورات العالقة بضرع الحيوان أو من على جلده كما أن قذارة الحيوان لها علاقة بقذارة حلماته وبالتالي فالحيوان غير النظيف تكون حلماته أيضا غير نظيفة وبالتالي فالقطرات الأولى أثناء حلب اللبن تحتوى على أعداد ضخمة من البكتريا ، وتتوقف نظافة حلمات وجلد الحيوان على أعداد هذه الميكروبات فنلاحظ أنه في الحيوان النظيف تكون أعداد هذه الميكروبات قليلة ولكنها تزداد إلى الملايين وقد تصل إلى أكثر من ١٠٠ مليون خلية في المللى لتر الواحد من لبن الحيوانات غير النظيفة، لذلك فمن الضروري العناية بقص الشعر في منطقة الفخذ والأرداف مع التطهير المستمر للجلد والضرع حيث يعتبر هذا ضروري لإنتاج ألبان نظيفة.

٢-الحلاب وعملية الحلابة نفسها Milkman

الحلاب لابد وأن يكون نظيفا خالي من الأمراض وغير حامل لها، لذلك فإن حاملي الأمراض وعلى الأخص التيفود والدفتريا لا يسمح لهم بالتواجد في أماكن إنتاج اللبن كذلك فان أيدى هؤلاء تعتبر من أهم مصادر تلوث اللبن خصوصا إذا كانت مبتلة أثناء عملية الحليب كما يجب الاهتمام بالغسيل في حالة حلب الأبقار المختلفة لأن أيدى الحلابين في هذه الحالة تساهم في نقل مرض حمى الضرع من حيوان لآخر أما في حالة استعمال آلات الحليب فإذا لم يحسن استعمالها وتنظيفها وحفظها نظيفة معقمة فإنها تعتبر من أكثر مصادر تلوث اللبن.

٣- الهواء Air

قد يكون للهواء دور هام إذا ما كان هناك كثير من الأتربة التي تحمل الكثير من البكتريا لتسقط إلى اللبن ، وفى العادة لا يحتوى الهواء على كميات كثيرة من البكتريا ، ميكروفلورا الأجواء المحيطة باللبن تلعب دورا هاما في صفات اللبن فإذا كان الهواء أساسا ملوث بالبكتريا المتجرثمة فإن ذلك يكون من أهم أسباب ظهور العيوب الكثيرة في اللبن ومنتجاته ، وحتى يمكن تقليل أثر جو الحظائر يجب العناية التامة بالنظام وعدم إجراء عمليات التنظيف والتغذية قبل الحليب مباشرة كذلك يجب مراعاة الظروف الصحية من حيث التهوية والنظافة العامة في أماكن حلب الحيوانات، كما أن الذباب من أهم العوامل المساهمة في نقل البكتريا إلى اللبن ومن أخطرها حيث وجد أن ذبابة واحدة تستطيع نقل مئات الملايين من البكتريا ولأنها من أصل برازي فغالبا هناك خطورة احتمال وجود البكتريا المرضية.

٤-الأجهزة والأدوات Apparatus and tools

تنظيف كل آنية أو جهاز يوضع فيه أو يمر به اللبن من الأمور الهامة لتقليل المحتوى البكتيري في اللبن الخام ، لذا يجب الاهتمام التام بنظافة الأدوات والأجهزة والمحافظة عليها وتوجد طرق عديدة تستخدم في تطهير وتنظيف الأدوات مثل الكيماويات وتستعمل في مختلف أماكن الإنتاج ومصانع الألبان وقد يستعمل الماء الدافيء على ٣٥°م بقصد إزالة المكونات اللبنية ثم استعمال محلول كربونات الصوديوم ٥٪ لإزالة البروتين وبقايا الدهن ثم الغسيل بالماء الساخن حتى تمام إزالة المادة القلوية وتجفف ، ويوجد العديد من المواد الكيماوية المستخدمة في تطهير الأدوات والآلات مثل مركبات الهيبوكلوريت والكلور واليود ومركبات الأمونيوم الرباعية ويمكن استعمال الهواء الساخن كوسيلة للتجفيف والتعقيم في النهاية. والماء المستخدم في عملية تنظيف الأدوات والأجهزة يجب مراعاة التأكد من مصدره وصلاحيته حتى لا يكون هو الآخر مصدرا لتلوث اللبن بأعداد من الميكروبات وخاصة المتجرثمة والمرضية.

إنتاج ألبان ذات جودة عالية Production of high quality milks

ظروف إنتاج اللبن والمحافظة علية في المزرعة يعتبر من الأمور الهامة جدا للحصول على ألبان ذات صفات ممتازة وللحصول على اللبن إما أن يكون ذلك يدويا أو ميكانيكيا بألات الحليب وقد وجد أن المحتوى البكتيري متفاوت جدا في حالة الحليب اليدوي على حسب العناية حيث وجد أنه عند حلب بقرة واحدة تحت ظروف مختلفة يختلف المحتوى الميكروبي للبن الناتج ففي الظروف غير الصحية يزداد المحتوى البكتيري ولكن عند العناية وإتباع الظروف والطرق السليمة تقل الأعداد البكتيرية. وتعتبر طريقة الحلابة الميكانيكية من الطرق المفضلة إذا أحسن استخدامها في إنتاج ألبان نظيفة حيث أنه يمكن باستعمالها استبعاد مصادر كثيرة من التي تلوث اللبن مثل الهواء وجلد الحيوان وأيدى الحلابين، وفي حالة إهمال نظافة هذه الآلات الخاصة بالحليب الميكانيكي فإن صفات اللبن قد تكون سيئة جدا وقد تصل الأعداد الميكروبية باللبن إلى مئات ألاف أو ملايين الخلايا في المللى لتر الواحد ولذلك فإن تنظيف هذه الآلات من الأهمية الشديدة حيث يجب عمل أسلوب تنظيف جيد لهذه الآلات بالمطهرات والماء الدافئ وتستخدم مطهرات عديدة لهذا الغرض.

ويجب ملاحظة أن إنتاج ألبان نظيفة تحتوى على أعداد قليلة من البكتريا لا يعنى حتما ضمان سلامة مستهلكيها، على أنه من الأفضل اتخاذ إجراءات صحيحة عند إنتاج الألبان منعا للتلوث بالبكتريا المرضية إلا أن ذلك قد يكون مكلفا وأن أكثر الطرق نفعا في هذا المجال، وحتى نضمن سلامة مستهلكي الألبان هو إجراء عملية البسترة حتى نضمن التخلص من كل البكتريا المرضية بالإضافة إلى إتباع طرق وخطط صارمة للتأكد من عدم التلوث بعد البسترة ولكن من المرغوب

فيه إنتاج ألبان ذات أعداد قليلة من البكتريا مع القول أن ذلك ممكنا تحت الظروف العادية حتى يمكن إنتاج ألبان ذات جودة بكتريولوجية عالية وهو الأساس الضروري في تصنيع المنتجات ذات الجودة البكتريولوجية ذات التسويق العالي.

درجات اللبن Milk grades

يشترط فى اللبن الجيد أن يكون ذا قيمة غذائية عالية وقوة حفظ Keeping quality جيدة ، وله طعم ورائحة مرغوبة وأن يكون نظيفاً مأموناً للشرب وتتخذ الأعداد العالية من البكتريا الموجودة باللبن كدليل على سوء الإنتاج والتداول واحتمال التلوث بميكروبات مرضية ، يقدر عدد البكتريا الموجودة باللبن بطريقة الأطباق وهى الأكثر شيوعاً أو بطريقة العد المباشر بالميكروسكوب أو بشريحة بريد Breed أو بسرعة تكون الحمض أو باختبارات الاختزال للون دليل أزرق المثيلين من الأزرق إلى عديم اللون ، وعلى أساس عدد الميكروبات الموجودة باللبن يقسم اللبن إلى درجات على أن يكون اللبن فى جميع الأحوال خالى من الميكروبات المرضيةPathogenic microorganisms.

جدول(٧-١-١): درجات اللبن الخام والمبستر.

الدرجة	العدد الكلي للبكتريا/مل لبن لا يزيد عن		عدد بكتريا القولون/مل لبن لا يزيد عن
	اللبن الخام	اللبن المبستر	
أ	٢٠٠٠٠٠٠	٣٠٠٠٠٠	١-٥
ب	١٠٠٠٠٠٠٠	٥٠٠٠٠٠	١٠
جـ	بدون تحديد	بدون تحديد	بدون تحديد

العوامل التي تؤثر على أعداد وأنواع الميكروبات في اللبن الخام

١ – نمو وتكاثر الميكروبات **Growth and reproduction of microorganisms**

عند فحص عينة من اللبن الخام نجد أنها تحتوى على العديد من الميكروبات والتي تصل إليه من المصادر العديدة السابق ذكرها ، حيث في المراحل الأولى من حلب اللبن لا تلاحظ الزيادة في أعداد البكتريا بل أحيانا تتناقص نظرا لاحتواء اللبن على مواد طبيعية توقف نمو البكتريا ،هذه الفترة تسمى طور النمو البطيء أو الموقف للنمو (الطور اللاجى) وإن إطالة هذه الفترة هام جدا من الناحية العملية فإذا طالت تلك الفترة يساعد ذلك على قدرة الألبان على الحفظ لفترة أطول ويتوقف ذلك على درجة الحرارة لذا فان التبريد من الأمور الهامة في تلك المرحلة وبانتهاء هذه المرحلة أى بانتهاء تأثير مثل هذه المواد المانعة يحدث نشاط سريع لكل الأنواع البكتيرية حيث تتكاثر جميع الأنواع الموجودة تبعا لدرجة الحرارة الموجودة عليها اللبن ويسمى هذا بالطور اللوغاريتمى أو طور النمو السريع ونجد أن بكتريا حمض اللاكتيك في هذه المرحلة تسود سيادة تامة حيث تحدث تخثر اللبن.

وينتج عن هذا النمو تكوين حموضة بدرجة عالية تتسبب في ضعف نمو البكتريا وتجعلها تمر إلى طور الثبات أى أن أعدادها لا تزداد وقد تتناقص بقدر بسيط ثم تنشط الفطريات والخمائر التي تستهلك حمض اللاكتيك حتى تتهيأ الظروف لنمو البكتريا المتجرثمة وتحلل بروتينات اللبن.

٢ – الاحتياجات الغذائية

لكي تنمو الميكروبات لابد من توفر ما يلي:

أ–مصدر للطاقة.

ب–مصادر للمواد والمركبات التي تدخل في بناء الخلية.

ج–المعادن والمواد الذائبة الأخرى اللازمة لإتمام عمل كثير من الإنزيمات.

ويعتبر اللبن ومنتجاته من أحسن وأفضل البيئات الصالحة لنمو جميع الكائنات الحية الدقيقة التي تتعلق بصناعة الألبان

٣ – وجود الماء

الماء يمثل الوسط الذي تنتشر خلاله جميع نواتج التمثيل التي تتخلص منها الخلايا حيث يوفر الماء البيئة التي تتوفر بها الاحتياجات الغذائية للميكروبات ويشترك الماء في العديد من العمليات الحيوية والتفاعلات الكيميائية الضرورية للحياة. والماء الحر هام جدا لنشاط الميكروبات وبالطبع فإن كمية الماء الحر الواجب وجودها تختلف من كائن حى إلى أخر ويحتوي اللبن السائل على كمية وفيرة من الماء الحر تسمح بنمو وتكاثر جميع أنواع الكائنات الحية

الدقيقة، ومن ناحية أخرى فإن وجود الماء على أسطح الأجهزة والأدوات المستخدمة في نقل وتداول اللبن يقلل من نظافتها الميكروبيولوجية.

٤- تركيز ايون الأيدروجين pH

رقم الـ pH في البيئة أو الوسط من العوامل الهامة التي تؤثر على نمو ونشاط وتكاثر الميكروبات ووجد أن معظم الميكروبات تنمو بنشاط عند pH يتراوح ما بين ٥.٧ – ٧.٥ ومن ذلك يتضح أن اللبن ذو pH مثالي لنمو ونشاط معظم أجناس البكتريا.

٥- وجود الأكسجين Presence of oxygen

يعتبر الأكسجين أهم العوامل التي تؤثر على نمو ونشاط الكائنات الحية الدقيقة وعلى أساس الحاجة للأكسجين تقسم الكائنات الحية الدقيقة إلى أربعة أقسام

أ- هوائية Aerobic تنمو فقط في وجود الأكسجين.

ب-لا هوائية Anaerobic تنمو فقط في عدم وجود الأكسجين الجوى أو الحر.

ج-لا هوائية اختيارية Facultative anaerobic وتنمو في وجود أو عدم وجود الأكسجين.

د-كائنات قليلة الاحتياج إلى الأكسجين Microaerophilic وبذلك يمكن التحكم في درجة نشاط الميكروبات في اللبن عن طريق التحكم في كمية الأكسجين.

٦ – درجة الحرارة Temperature

درجة حرارة البيئة التي ينمو بها الكائن الحى الدقيق من العوامل الهامة في تحديد درجة نموه ونشاطه ونظرا للأنواع العديدة من الميكروبات في اللبن فان درجة حرارة حفظ اللبن من العوامل الهامة التي تؤثر على أنواع الميكروبات التي تسود في اللبن ومن خلال معرفة أن درجة الحرارة المثلي لنمو معظم واغلب الميكروبات هي درجة حرارة الغرفة أو أعلى قليلا لذلك فإن التبريد على درجات حرارة اقل من ٤°م من العوامل الهامة لتقليل أعداد الميكروبات في اللبن الخام.

٧ – المضادات الحيوية Antibiotics

الكثير من أجناس البكتريا حساسة للمضادات الحيوية وخاصة البكتريا المستخدمة في الصناعات اللبنية، وتعتبر المضادات الحيوية علاج هام للحيوانات المصابة بالتهاب الضرع حيث أنها تؤدى إلى الحد من نمو الميكروبات المرضية، وعلى ذلك فان جزء من هذه المضادات الحيوية تفرز مع اللبن في الأيام الأولى من العلاج وتختلف كميتها باختلاف عوامل عديدة مثل الكمية المعطاة من المضادات الحيوية وطبيعة الحيوان ووجود المضادات الحيوية في اللبن يسبب تثبيط نمو البكتريا المستخدمة في الصناعات اللبنية وفى نفس الوقت لا يثبط نمو بعض أنواع البكتريا الأخرى مثل بكتريا القولون التي تسبب عيوب في اللبن ومنتجاته.

٨ – المضادات الطبيعية في اللبن **Natural antibiotics in milk**

يحتوى اللبن الخام الطبيعي على كميات متباينة من عدة مواد تثبط نمو وتكاثر بعض أنواع البكتريا وقد يصل تأثيرها إلى قتلها والقضاء عليها ومنها:

أ- الجلوبيولين المناعي وينتقل إلى اللبن عن طريق الدورة الدموية.

ب- اللاكتينين ويوجد منة لاكتينين(١) ويفرز مع لبن السرسوب ولاكتينين(٢) ويفرز مع اللبن وله تأثير مثبط على العديد من البكتريا خاصة *Lactococcus pyogenes*.

ج- لاكتوفيرين وهو بروتين مرتبط بالحديد يحمى الضرع من الإصابة البكتيرية بميكروب *E. coli*

د- لاكتوبروكسيديز ويخلق خلال الضرع ويوجد في اللبن بتركيز عالي ويثبط مجموعة البكتريا الكروية السبحية وله تأثير مانع لنمو *E. coli*.

كما توجد بعض المواد الأخرى مثل فوق أكسيد الأيدروجين المفرز بواسطة بعض الميكروبات في الضرع وان فاعلية اللبن كمضاد حيوي للبكتريا تعتبر ضئيلة ولا يمكن الاعتماد عليها لتثبيط نمو مجموعة البكتريا في اللبن الخام لمدد طويلة.

وتعتبر الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة والتي يتميز اللبن بها من المواد المثبطة لنمو العديد من البكتريا وكذلك مجموعة بكتريا حمض اللاكتيك كما أن العديد من البكتريا المحللة للدهن تتعرض للموت عندما يبدأ تركيز الأحماض الدهنية في اللبن في الارتفاع في البيئة رغم أن هذه الأحماض الدهنية المنفردة هي نواتج تمثيل ونشاط هذه البكتريا.

٩ – المواد الكيميائية **Chemical substances**

تستخدم العديد من الكيماويات في مجال الألبان بهدف القضاء على الكائنات الحية الدقيقة غير المرغوبة والتي قد تسبب مشاكل وفساد للألبان ومنتجاتها وهى إما أن تستخدم كمواد مطهرة وذلك للقضاء على الميكروبات المرضية مثل التي تستخدم في معاملة الماء والجدران والأدوات أو تستخدم كمقاومة الفساد مثل التي تستخدم لمقاومة العفن (الفطريات) وبعض أنواع البكتريا والخمائر وهناك مواد تقضى على الكائنات الحية الدقيقة بصفة عامة وجراثيمها ومن أهم الكيماويات الشائع استخدامها هي:

أ-الأحماض. ب- القلويات. ج- المعادن وأملاحها.

د- فوق أكسيد الأيدروجين. هـ- مركبات الكلور واليود.

كذلك تعتبر الخمائر والفطريات من الكائنات الحية الدقيقة التى تتواجد بالألبان ، والخمائر عبارة عن كائنات حية دقيقة وحية الخلية بيضاوية واكبر حجما من البكتريا وموجبة لجرام وغير متحركة وتنمو الخمائر في نطاق من الحرارة من ٢٥ – ٤٠°م ومعظم الخمائر تقاوم الحموضة

وهى هوائية وزيادة الأكسجين يزيد من نموها وتنمو الخمائر فى المعمل على بيئات كثيرة كما أنها تنتج روائح وألوان حمراء وزرقاء، والخمائر إما أن تخمر اللاكتوز أو لا تخمره كذلك هناك أنواع تحلل الدهن مثل *Candida lipolytica* كذلك منها ما يكون جراثيم مثل *Saccharomyces* وتلعب الخمائر دورا هاما في الألبان ومنتجاته حيث أنها تخمر سكر اللاكتوز مثل جنس *Torulopsis kluyveromyces* والتي تستخدم في صناعة احد الألبان المتخمرة وهو الكيفير وقد تتسبب الخمائر الكثير من العيوب في الطعم والمظهر.

أما عن الفطريات فهى تكون خلايا راقية (حقيقية النواة) تعتمد على التغذية العضوية وتقوم بأكسدة هذه المواد للحصول على القليل من الطاقة وتتكاثر عن طريق تكوين العديد من الجراثيم عدا القليل منها والذي يتميز بطرق تكاثر أخرى كما أن جزء من الميسليوم يمكنه النمو ليكون فطر كامل ولا يحتوى الفطر على كلوروفيل.

والفطريات عبارة عن كائنات حية دقيقة عديدة الخلايا قادرة على تحليل الكربوهيدرات والدهن وبعضها يهاجم البروتينات كما أنها تنمو هوائيا في نطاق واسع من درجات الحرارة وpH إلا أن الفطر يفضل البيئات الحمضية. الفطريات بصفة عامة غير مقاومة للحرارة وتكون جراثيم تكون أكثر مقاومة للحرارة عن الفطر نفسه ومعظم الفطريات لا تنمو في اللبن ولكنها تنمو في كثير من المنتجات اللبنية، وتلعب الفطريات دورا هاما في مجال الألبان وقد يكون دورها مفيد حيث يستخدم البعض منها في صناعة بعض أنواع من الجبن مثل الجبن الأزرق (الركفورت) ويستخدم لذلك فطر *Penicillium roquefortii.* كذلك يستخدم فطر *P. camembertii* في صناعة الجبن الكممبرت الذي ينمو على سطحها ويكسبها الطعم والرائحة المميزة لهذا الصنف من الجبن ، ومن ناحية أخرى قد تسبب بعض الفطريات كثير من المشاكل في مجال الألبان مثل نمو الفطريات على سطح بعض المنتجات كالزبد والجبن والألبان المتخمرة مكونة بقع ذات ألوان مختلفة كذلك بعض الأنواع قد تنمو في الألبان المكثفة المحلاة وتكون بها عيوب.

أنواع الميكروبات الموجودة باللبن الخام Microorganisms in raw milk

تنتقل الميكروبات إلى اللبن الخام من مصادر عديدة وكل مصدر من هذه المصادر يضيف إلى اللبن أنواع معينة من الميكروبات ومن أهم أنواع الميكروبات التي قد تصل إلى اللبن من المصادر المختلفة:

١- الميكروبات التى تنتقل عن طريق ضرع الحيوان

Microorganisms transmitted by animal udder

من أهم الأجناس التي تنتقل إلى اللبن من ضرع الحيوان هي جنس *Micrococcus,* *Lactococcus* وبعض أفراد من جنس *Corynebacterium* السالبة لجرام حيث أن هذه

الأعداد تزداد في بداية عملية الحلابة ثم تقل بعد ذلك لذلك ينصح باستبعاد الكميات الأولى إثناء عملية الحليب نظرا لزيادة أعداد الميكروبات بها، كذلك إذا كان الحيوان مصاب بمرض التهاب الضرع فيحتمل وصول سلالات من النوع *Staphylococcus* ، كذلك إذا كان الحيوان مصاب بمرض البروسيلا فمن المحتمل وجود أفراد هذا الجنس، وإذا كان الحيوان مصاب بمرض السل فمن المحتمل أن تتواجد الميكروبات المسببة لهذا المرض فى اللبن الناتج.

٢- الميكروبات التى تنتقل عن طريق جلد الحيوان

Microorganisms transmitted by animal skin

قد يكون جلد الحيوان مصدرا لتلوث اللبن بكثير من القاذورات مثل الروث والأتربة وقد تكون عالقة بجلد الحيوان وتسقط باللبن أثناء عملية الحليب وتصبح مصدرا لأنواع كثيرة من الميكروبات من أهمها أجناس *Clostridium, Bacillus, Escherichia, Enterococcus* ، كذلك المياه المستخدمة في الغسيل قد تكون مصدرا لميكروب *Pseudomonas* لذلك يجب العناية بجلد الحيوان للتقليل من أعداد الميكروبات التي تصل إلى اللبن عن هذا الطريق.

٣-الميكروبات التى تنتقل عن طريق الأوعية والأدوات

Microorganisms transmitted by apparatus and containers

وهى من أخطر مصادر التلوث حيث تلوث اللبن بأعداد وأنواع عديدة من الميكروبات وأهمها مجموعة بكتيريا القولون **Coliforms** وهناك أيضا أنواع عديدة ومتعددة من الخمائر والفطريات قد تصل إلى اللبن وهذه المجاميع البكتيرية عندما توجد باللبن الخام فإنها تؤدى إلى إحداث تغيرات حيوية وكيميائية في اللبن، كما أنها قد تسبب أمراضا مختلفة للإنسان عند تناوله اللبن بصورته الخام دون معاملة حرارية.

تأثير درجات الحرارة علي ميكروبات اللبن

Effect of temperature on milk microorganisms

الميكروبات التى تتواجد باللبن ذات احتياجات حرارية مختلفة فمنها المحب للبرودة الذى يستطيع النمو قرب الصفر المئوي ومنها المحب للحرارة المتوسطة **Mesophilic** الذى يسود على درجة حرارة الغرفة ومنها المحب للحرارة المرتفعة **Thermophilic** حيث يستطيع النمو على درجات حرارة أعلى من ٦٥° م ومنها المقاوم للحرارة والذى يظل حى حتى بعد البسترة ويلاحظ أنه:

- عند درجات الحرارة المنخفضة يقف نشاط البكتريا المنتجة للأحماض وتنشط البكتريا المحللة للبروتين.

- عنـد درجـات الحـرارة المتوسـطة تنشـط البكتريـا المنتجـة للأحمـاض ويقـل نشـاط البكتريـا المحللة للدهون والبروتين.
- عند درجات الحرارة العالية أى عند غلى اللبن تموت البكتريا المنتجة للأحماض وتبقى جراثيم البكتريا التى تنمو وتنشط وتحلل البروتين.

العمليات التى يتعرض لها اللبن بعد عملية الحليب

التبريد Cooling

عقب الحليب يبرد اللبن مباشرة إلى درجة ٤ –١٠ ° م لإيقاف نمو وتكاثر الميكروبات الموجودة به ويجب المحافظة على هذه الدرجة عند نقل اللبن وتداوله.

البسترة Pasteurization

تعتبر البسترة من طرق حفظ اللبن المناسبة لأنها تحافظ على مكوناته الغذائية، خاصة الفيتامينات والكالسيوم، ولا تؤدى إلى تغيير يذكر فى طعمه أو مظهره. وتتم البسترة بتسخين اللبن لدرجة حرارة أقل من الغليان Boiling حيث يتم القضاء على٩٠ –٩٩٪ من البكتريا الحية الموجودة باللبن ويتضمن ذلك القضاء على أغلب الميكروبات المفسدة للبن وكل الميكروبات المرضية والتى من بينها ميكروب السل وهو من أشد الميكروبات المرضية غير المتجرثمة الموجودة باللبن ويتميز بمقاومته للحرارة Thermoduric حيث لا يموت إلا بتعرضه لدرجة حرارة ٦١ ,١ °م لمدة ١٠ دقائق.

وتتم البسترة بطريقتين هما:

١– البسترة البطيئة(Low Temperature Holding Method (L. T. H. M

وفيها يعامل اللبن على درجة ٦٢.٨ ° م لمدة ٣٠ دقيقة.

٢ –البسترة السريعة(High Temperature Short Time (H. T. S. T

وفيها يعامل اللبن على درجة ٧١.٧ °م لمدة ١٥ ثانية.

عقب البسترة يبرد اللبن إلى درجة٥ ° م ثم يعبأ فى زجاجات معقمة نظيفة ويمكن حفظه لمدة أسبوع على هذه الدرجة المنخفضة حيث يقف نشاط الميكروبات التى لم تمت بالبسترة ويجب المحافظة على اللبن المبستر من إعادة تلوثه من العمال أو الأواني أو الذباب، ومن أهم الميكروبات التى تسبب فساد للبن المبستر المحفوظ على درجة حرارة منخفضة هى البكتريا المحبة للبرودة Psycrophilic، هذا ويتبقى بعد البسترة البكتريا المقاومة للحرارة Thermoduric مثل :

Streptococcus faecalis ,Lactococcus thermophilus and Lactobacillus bulgaricus.

والبكتريا المحبة للحرارة المرتفعة Thermophilic مثل: *M .luteus , M .varians* والبكتريا المتجرثمة Sporeformers مثل الأنواع التابعة لأجناس *Clostridium* &*Bacillus*.

اختبار الفوسفاتيز Phosphatase test

يؤخذ اختبار إنزيم الفوسفاتيز كدليل على مدى كفاءة عملية البسترة وخلو اللبن من الميكروبات المرضية لأنه يوجد فى اللبن الخام وفى كثير من الأنسجة وهو لا يوجد فى اللبن المبستر لأنه يتلف بالبسترة. لإجراء الاختبار يضاف جزء من اللبن المراد اختباره إلى مادة فوسفاتية هى داى صوديوم فينيل فوسفات ومحلول منظم من بورات الصوديوم مع صودا كاويه ويحضن الخليط على درجة حرارة ٤٠ ° م لمدة ١٥ دقيقة ، إذا تواجد الإنزيم فإنه يحلل المادة الفوسفاتية وينفرد منها الفوسفات والفينول ويكشف عن الفينول المتكون بدليل 2,6 dichloro quinone chloro imide (CQC) فى وجود كبريتات النحاسيك $CuSO_4$ كعامل مساعد فإذا تكون لون أزرق من الإندوفينول Endo phenol دل ذلك على وجود إنزيم الفوسفاتيز وبالتالى يدل على عدم كفاءة عملية البسترة ، ويمكن استخلاص اللون الأزرق بواسطة كحول البيوتانول ومقارنة اللون المتحصل عليه مع ألوان قياسية ، وتلعب البكتريا دورًا هاماً في الألبان والصناعات اللبنية الأمر الذي يقتضى معه دراسة هذه الكائنات الحية الدقيقة بعناية شديدة.

المجاميع البكتيرية الهامة في الألبان ومنتجاتها

البكتريا الموجبة لجرام Gram positive bacteria

توجد هذه البكتريا في أشكال عديدة منها العصوي أو الكروي أو في خيوط وتختلف فى احتياجاتها للأكسجين فمنها الهوائية أو اللاهوائية اختيارًا أو حتمية أو قليلة الاحتياج للأكسجين وكذلك يوجد منها المكونة للجراثيم والغير مكونة للجراثيم وسنذكر منها الأنواع التالية الهامة في مجال الألبان.

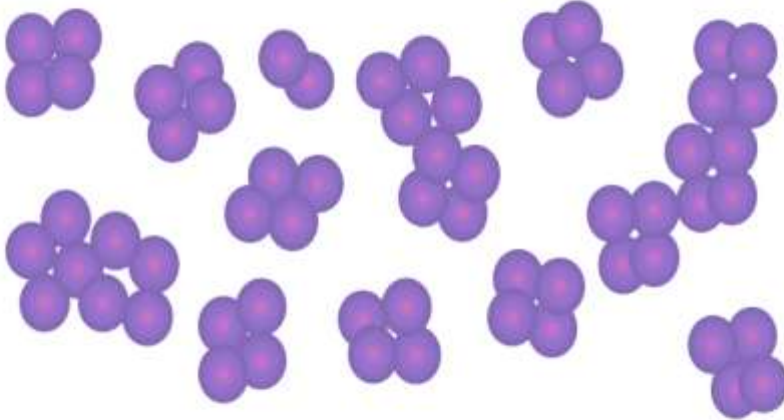
أولا: البكتريا الموجبة لجرام الكروية وغير المكونة للجراثيم

يوجد بهذه المجموعة أجناس عديدة لها أهمية كبيرة في صناعة الألبان ومن أهمها:

١- جنس *Micrococcus*

تتواجد هذه البكتريا في الألبان المعاملة بالحرارة ومنتجات الألبان وتنمو على سطح الجبن مثل جبن البريك، تنمو في محلول سكري ٦٠ ٪ لذلك فهى تسبب فساد الألبان المركزة والمحلاة وتخثرها.

ومن أهم الأنواع التابعة لهذا الجنس *M. luteus* and *Micrococcus varians*



شكل ٧ (١) -١: بكتريا *Micrococcus* sp.

٢- جنس *Lactococcus*

يعتبر جنس *Lactococcus* من أكثر الأجناس البكتيرية أهمية في الألبان، ويشمل هذا الجنس بعض الأنواع الهامة في صناعة الألبان ومنها *L. thermophilus* ، وتعتبر هذه البكتريا من الكائنات الحية الدقيقة الهامة في صناعة الجبن والألبان المتخمرة مثل الزبادي ولكن

هذا الميكروب حساس لوجود المضادات الحيوية لذلك يستعمل هذا النوع للكشف عن المضادات الحيوية وتعتبر درجة حرارة ٣٧ – ٤٥°م مثالية لنموه.



شكل ٧ (١) –٢: بكتريا *Lactococcus* sp.

٣– جنس *Leuconostoc*

يتضمن هذا الجنس تسعة أنواع من أهم تلك الأنواع والتي تستخدم في مجال الألبان ومنتجاتها مايلى :

- *Leuconostoc lactis*
- *L. mesenteroides* sub.sp. *mesenteroides*
- *L. mesenteroides* sub.sp. *dextranicum*
- *L. mesenteroides* sub.sp. *cremoris*

٤– جنس *Lactococcus*

تستخدم أنواع هذا الجنس في العديد من بادئات تصنيع الألبان المتخمرة والجبن وعند نموها في اللبن فإنها تخمر سكر اللاكتوز وتنتج حمض اللاكتيك وهى حساسة للمضادات الحيوية والمطهرات وبعض سلالات هذا الجنس ينتج مضاد حيوي يطلق علية النيسين Nisin يثبط نمو العديد من أنواع الكائنات الحية الدقيقة المرضية والمتجرثمة Sporeformers.

ومن أهم الأنواع التابعة لهذا الجنس ما يلى:

1 - *Lactococcus lactis* sub.sp. *lactis*

وهى سلالات كروية أو بيضاوية الشكل وسريعة الإنتاج للحموضة على درجة الحرارة المعتدلة ٣٠ °م، وتستخدم في صناعة الجبن الجافة مثل الشيدر والراس وتعطى خثره صلبة بدون غاز أو انفصال شرش حيث أنها تكون من٠.٨ – ١.٢٪ حمض لاكتيك وتنتج المضادات الحيوية

مثل النيسين Nisin الذي يوقف نشاط كثير من الكائنات الحية الدقيقة المرضية حيث يستخدم هذا المضاد الحيوي في عمليات حفظ الجبن وزيادة مقاومته للانتفاخ الغازي المتأخر.

2 – *L. lactis* sub.sp. *diacetylactis*

تتميز هذه السلالة بتخميرها لحمض الستريك منتجة حمض اللاكتيك والخليك وثاني أكسيد كربون ومركبات الكربون الرباعية التي تعطى النكهة والطعم المرغوب للمنتجات اللبنية كذلك حمض الخليك الناتج يعتبر مثبط Inhibitor لنشاط بعض سلالات بكتريا القولون أما درجة الحرارة المثلي لنموها ٣٠°م.

3 – *L. lactis* sub.sp. *cremoris*

4- *Enterococcus*

ومن أهم أنواع هذا الجنس *En. faecalis* حيث يوجد في أمعاء الإنسان والحيوان كما يوجد في اللبن الخام واللبن المبستر حيث يقاوم هذا الميكروب عملية البسترة ويوجد في الألبان المجففة والجبن وتستخدم بعض سلالات هذا الميكروب في صناعة الجبن الشيدر حيث يكسب الجبن النكهة الواضحة كما توجد منة بعض السلالات التي تقاوم حرارة البسترة وتفرز إنزيم مشابه لإنزيم الرينين ويسبب عيب التجبن الحلو كما يسبب الطعم المر في اللبن والجبن الطرية.

ثانيا: البكتريا الموجبة لجرام العصوية غير المكونة للجراثيم

يوجد بها الأجناس التالية:

١ – جنس *Lactobacillus*

توجد منتشرة في الأعلاف وأسطح النباتات وفى السيلاج والأنسجة العضوية وفى اللعاب والقناة الهضمية للإنسان والحيوان وفى اللبن ومنتجاته وسلالات هذا الجنس هامة جدا في الصناعات اللبنية وخاصة في الألبان المتخمرة (الزبادي) وتلعب دورا هاما في تسوية الجبن وتستخدم أخيرا في الإنتاج التجاري لحمض اللاكتيك، حيث تقسم إلى:

أ – بكتريا متجانسة التخمر وتشمل الأنواع التي تخمر السكريات مكونة حمض اللاكتيك كناتج رئيسى لهذا لتخمر.

ب – بكتريا مختلطة التخمر وتشمل الأنواع التي تخمر السكريات إلى نواتج مختلفة من بينها حمض اللاكتيك، حمض الخليك، ثاني أكسيد الكربون، كحول الإيثانول كنواتج رئيسية.

كما يمكن تقسيم سلالات جنس *Lactobacillus* إلى مجاميع طبقا لنسبة الحموضة التي تنتجها في اللبن:

أ- بكتريا لا تنتج حموضة مثل *Lac. delbrueckii* sub.sp. *delbrueckii* ، حيث أن هذه السلالة تستخدم كبادئ في صناعة الجبن الجاف.

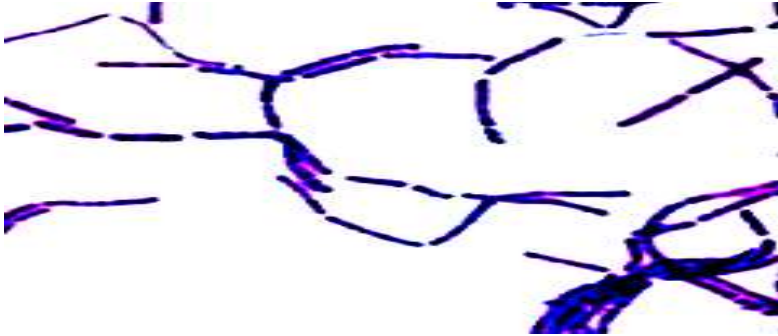
ب- بكتريا تنتج حموضة منخفضة أقل من ١٪ مثل

Lac.fermentum , Lac. brevis وهى سلالات مختلطة التخمر وتعتبر هذه السلالات هامة في صناعة الجبن الجاف.

ج- بكتريا تنتج حموضة متوسطة من ١ إلى ١.٨٪ مثل

Lac.casei, Lac .plantarum, Lac.delbrueckii sub.sp. *lactis,* وهى سلالات مسئولة عن تسوية الجبن حيث أن لها مقدرة على تحليل البروتين لذلك تستخدم كبادئ لصناعة الجبن وخاصة الجبن الجاف.

د- بكتريا تنتج حموضة مرتفعة أعلى من ٢٪ مثل *Lac .acidophilus, helveticus* ، *Lac. Lac.debrueckii* sub.sp. *bulgaricus,* حيث تستخدم هذه السلالات كبادئ في صناعة الزبادى وبعض الألبان المتخمرة مثل لبن الأسيدوفيلس وهذه الأنواع تساعد على خفض نسبة الكوليسترول في الدم ومنع حدوث الإمساك لذلك تستخدم في تحضير المستحضرات الطبية في صورة مجففة لتأثيرها النافع في الأمعاء.



شكل ٧ (١) -٣: بكتريا *L. debrueckii* sub.sp. *bulgaricus*

٢- جنس *Bifidobacterium*

وتستخدم سلالات هذا الجنس كبادئ في صناعة بعض الألبان المتخمرة ولها صفات حيوية هامة داخل جسم الإنسان ومن أهم أنواع هذا الجنس ما يلى:

B. bifidum, B. infantis

ثالثا: البكتريا الموجبة لجرام العصوية غير المنتظمة وغير المكونة للجراثيم

معظم هذه المجموعة تنمو هوائيا كما أنها تنتج حموضة وأهم الأجناس:

١- جنس *Propionibacterium*

تقوم ميكروبات هذا الجنس بدورا هاماً في تسوية الجبن السويسري وتكوين العيون بالجبن وتوجد في أمعاء الحيوانات المجترة ومن أهم أنواع هذا الجنس:

Pro .freudenreichii sub.sp.*freudenreichii*

Pro .freudenreichii sub.sp.*shermanii*

٢ – جنس ***Brevibacterium***

ومن أهم صفات هذه البكتريا ما يلى:

بكتريا ذات شكل عصوي قصير، موجبة لجرام وغير متجرثمة وغير متحركة ، هوائية أو اختيارية، بعض أنواعها تنتج صبغات.

ومن أهم أنواع هذا الجنس ***Brevibacterium linens***

وبالإضافة إلى الصفات السابقة فإن هذه البكتريا لا تقاوم عملية البسترة ولها القدرة على تحلل البروتين كما أنها تقاوم الملح حتى تركيز ١٥٪ وتتواجد في مواد العلف الجافة وفى التربة وتستخدم في صناعة بعض أنواع الجبن المسوي سطحيا حيث تكون غشاء على سطح هذه الأنواع من الجبن، وتقوم هذه البكتريا بدور رئيسي في تسوية الجبن بإفرازها بعض الإنزيمات التي تحلل البروتين على سطح الجبن.

النمو التعاونى والتكافلى للكائنات الحية الدقيقة في الألبان ومنتجاتها

يعتبر اللبن من أفضل المواد الغذائية التي تهيئ أنسب الظروف لمعظم الكائنات الحية الدقيقة التي تصل إليه وتنشأ هذه الكائنات الحية الدقيقة علاقة متبادلة حيث تتعايش مع بعضها وان طبيعة المعايشة بين الكائنات الحية الدقيقة تتوقف إلى حد كبير على الوسط الموجود به الميكروب كذلك على درجة الحرارة بالإضافة إلى نسبة الكائنات الحية الدقيقة بعضها إلى بعض وعوامل أخرى ، لذلك فمن المتوقع حدوث تغيرات عديدة ومتتابعة **Successive** في اللبن وهناك ثلاث أنواع مختلفة من النمو في اللبن فهناك النمو التعاوني والنمو التكافلي والنمو التضادى.

١ – النمو التعاوني **Synergistic growth**

ويعنى ذلك حتمية وجود ميكروبين أو أكثر لإحداث التغير المرغوب ولا يستطيع أحد هذه الكائنات الحية الدقيقة بمفرده أن يظهر هذا التغير مثل إنتاج الحمض ومركبات النكهة في بعض المنتجات حيث نجد أن البادئات المختلطة تتكون من سلالة من نوع ***Lactococcus lactis*** **sub.sp.*lactis*** لكي تنتج الحموضة من اللاكتوز كذلك تحتوى البادئات على سلالات من جنس ***Leuconostoc*** لكي تخمر السترات وتعطى مركبات الطعم والنكهة ولكي يتم هذا لابد من وجود الميكروبين معا ووجود احدهما بمفردة فى الوسط يعنى فقدان صفة من الصفات المميزة للمنتج إما إنتاج الحموضة أو إنتاج مركبات النكهة والطعم.

٢- النمو التكافلي Symbiotic growth

في هذه الحالة لكى ينمو أحد الكائنات الحية الدقيقة المرغوبة لابد أن تستخدم نواتج تمثيل ميكروب آخر سبق له النمو في الوسط بمعنى انه لابد من نمو الميكروب الأول أولا وتحويل العناصر الغذائية الموجودة في البيئة إلى عناصر يستخدمها الميكروب الثاني في نموه ونشاطه ، فعند ترك عينة من اللبن الخام على درجة حرارة الغرفة نجد أن بكتريا حمض اللاكتيك الكروية تنمو أولا وتخمر اللاكتوز وتنتج حموضة تكفى لترسيب الكازين تصل إلى ١٪ كحمض لاكتيك عندها يحدث تثبيط لبكتريا حمض اللاكتيك الكروية بينما تنشط بكتريا حمض اللاكتيك العصوية وتستمر في النمو حتى تصل الحموضة إلى ٢٪ يلي ذلك نمو بعض الفطريات على سطح الخثرة ثم بعد ذلك يتأكسد حمض اللاكتيك وتقل الحموضة عندها تصبح الظروف ملائمة للميكروبات المحللة للبروتين فتحلل الكازين.

التغيرات الحيوية والكيميائية التى تحدث فى اللبن ومنتجاته

Bio- chemical changes occur in milk and its products

المجاميع البكتيرية عندما تتواجد باللبن الخام فإنها تؤدى إلى إحداث تغيرات حيوية وكيميائية وقد تكون تلك التغيرات مرغوبة أو مسببة للفساد واهم هذه التغيرات مايلي:

أولاً: الميكروبات المخمرة للسكريات

Sugar fermentative microorganisms

تقوم بعض الميكروبات بتخمير اللاكتوز وتكون حمض لاكتيك بدرجة كبيرة وكافيه لتجبن الكازين لذلك تسمى ببكتريا حمض اللاكتيك الحقيقية ويمكن تقسيمها إلى نوعين:

١- ميكروبات حمض اللاكتيك الكروية ومنها الذي ينمو على درجة حرارة الغرفة وتكون خثره حمضية مثل أنواع ***Lactococcus*** مثل ***lactis*** **ss.** ***L. lactis*** ***cremoris*** **ss.** ***L.lactis*** ومنها الذي ينمو على درجة حرارة ٤٥°م ويكون خثره حمضية مثل ***L. thermophilus***.

٢- ميكروبات حمض اللاكتيك العصوية والتى تسبب أيضا تجبن حمضى في اللبن مثل التابعة لجنس ***Lactobacillus*** والتى منها :

L. acidophilus, L. lactis,

L. helveticus L. delbrueckii **ss.** ***bulgaricus, L. casei***

ويلاحظ أن أقصى درجة حموضة تنتجها بكتريا حمض اللاكتيك الكروية هى ١٪ بينما بكتريا حمض اللاكتيك العصوية تنتج ٢٪ أو أعلى من ذلك ووجد أن بكتريا حمض اللاكتيك العصوية

تستمر في النمو بعد أن يقف نمو بكتريا حمض اللاكتيك الكروية والتي يقف نموها بزيادة الحموضة حيث يصحب التجبن الحادث بفعل هذه الميكروبات طعم حلو نظيف بينما عند وجود بكتريا القولون فإنها تنتج حمض لاكتيك مصحوباً بطعم غير مرغوب نظرا لان هذه المجموعة تحلل الدهن والبروتين تحليل جزئى، بكتريا حمض اللاكتيك تعطى خثرة ناعمة وصلبة بدون انفصال شرش أو تكوين غازات وهذا النوع من التجبن مرغوب في صناعة الجبن والألبان المتخمرة ولكن بكتريا القولون تخمر السكريات وتنتج خثره ضعيفة ويحدث انفصال للشرش وتكوين غازات وهو نوع غير مرغوب فيه وهناك بعض الميكروبات تخمر السكريات وتنتج حموضة بدون حدوث تجبن.

ثانيا: الميكروبات المكونة للزوجة

Viscosity forming microorganisms

تكوين اللزوجة أو ما يعرف بالمخاطية يظهر في اللبن أو القشدة وغيرها من المنتجات اللبنية نتيجة لفعل بعض الميكروبات ويرجع إلى أن هذه الميكروبات تكون مواد كبسولية تسبب زيادة في لزوجة الناتج بدرجة يمكن معها سحبها في خيوط طويلة، وغالبا ما يلاحظ هذا العيب في اللبن المحفوظ على حرارة ١٣°م ويعتبر عيب واضح وغير مرغوب فيه.

وأهم الميكروبات المسئولة عن ظهور هذا العيب هي ميكروبات القولون ***Alcaligenes faecalis*** **sub.sp.** ***faecalis ,Escherichia***, ***Enterobacter*** وبعض سلالات من جنس ***Lactococcus***.

ثالثاً: الميكروبات المنتجة للغازات Gases forming microorganisms

تكوين الغاز في اللبن ومنتجاته قد يكون أمر مرغوب فيه مثل الجبن السويسرى وبعض أنواع الألبان المتخمرة مثل الكوميس والكيفير ولكن فى معظم الحالات فان إنتاج الغاز في منتجات الألبان يكون غير مرغوب فيه واغلب الغاز المتكون يكون ثانى أكسيد الكربون ومن أهم البكتريا المكونة للغاز في الألبان ومنتجاتها هي مجموعة بكتريا القولون ***E. coli, E. aerogenes*** حيث تنتج غاز وحموضة وتنمو بدرجة جيدة عند ١٠ – ٣٧°م وهناك بعض سلالات من البكتريا المختلطة لتخمر من جنس ***Lactobacillus*** وكذلك بكتريا حمض البروبيونيك وبعض الخمائر المحللة للاكتوز تنتج كحول وثاني أكسيد الكربون في اللبن والقشدة وتسبب تكوين رغاوى وعند التلوث الشديد من الروث فقد تصل بعض الميكروبات اللاهوائية المتجرثمة من جنس ***Clostridium*** إلى اللبن وتنتج عيوب غازية في الجبن وتسبب ما يسمى بالتخمر العاصف.

رابعاً: الميكروبـات المحللـة للبـروتين Proteolytic microorganisms

تحلل البـروتين هو عمليـة تحويـل الكـازين أو المركبـات المشـتقة منـة الغيـر ذائبـة إلـى مركبات ذائبة في الماء وذلك بفعل بعض أنواع الإنزيمـات التـي تفرزها بعض الميكروبـات ، ويوجد عدد كبير من الميكروبات لها القدرة على تحليل الكازين في اللبن ولكن بدرجات متفاوتـة فمنهـا مـا يحلل البروتين بدرجة بطيئـة مثل بعض سلالات جنس *Lactococcus* وهنـاك بعض السلالات تحلـل البـروتين تحليـل سـريع مـع تكـوين حموضـة قليلـة مثـل بعـض السـلالات التابعـة لأجنـاس *Pseudomonas, Bacillus, Flavobacterium* وبعض سلالات بكتريـا القولـون حيث أن هناك بعض السلالات تحلل كازين بدرجة عاليـة إلـى أن تصل إلـى حالـة ظهور مركبات ذات رائحـة نفاذة مثل الأمينات والأمونيا والإنـدول مثـل بعض أجنـاس *Clostridium* وهنـاك بعض السـلالات تفرز إنـزيم مشـابه لإنـزيم الـرينين وتـؤدى إلـى تجبن اللـبن بـدون تكـوين حمـض وتسـبب مـا يعرف بالتجبن الحلو ويتبع التجبن تحلل للبروتين والميكروبات المسئولة عن ذلك فهي *En. faecalis,* *.B. subtilis*

خامسا: الميكروبات المحللة للدهون Lipolytic microorganisms

يوجد العديد من البكتريا والفطريات والخمائر التي لها القدرة على تحليل الدهن عن طريق إنتاجها لإنزيم الليبيز مع انطلاق الأحماض الدهنية والجليسرول ويتميز دهن اللبن باحتوائه على أحماض دهنية قصيرة السلسلة مثل البيوتريك والكابرويك وهذه الأحماض وجودها في منتجات الألبان تسبب روائح غير مقبولة وعملية تحلل الدهن بواسطة إنزيم الليبيز ينتج عنها ما يعرف بالطعم الزنخ ، ومن أهم الميكروبات المحللة للدهن بعض السلالات التابعة لأجناس *Pseudomonas, Brevibacterium, Staphylococcus, Bacillus* كذلك بعض الفطريات التابعة لجنس *Penicillium* وخميرة *Candida lipolytica*.

سادساً: الميكروبات المنتجة لمركبات الطعم والنكهة

Microorganisms produce taste and flavor substances

بعض الميكروبات أثناء نموها في اللبن ومنتجاته تؤدى إلى حدوث تغيرات في الطعم والنكهة واهم هذه التغيرات هي:

١- الطعم المر Bitter taste

يرجع هذا العيب إلى وجود بعض أنواع البكتريا التابعة لجنس *Enterococcus* مثل ميكروب *En. faecalis* المسبب للطعم المر في اللبن والقشدة والجبن كذلك *B. subtilis*

يسبب الطعم المر في اللبن المبخر وهناك بعض أنواع من الخمائر تعطى رائحة الخميرة مصحوبة بالطعم المر.

٢- طعم المولت (الطعم المحروق) **Malt taste**

يظهر في اللبن والقشدة الناتجة من المزارع وخاصة في الصيف ووجوده دليل على عدم كفاية عملية التبريد وغالبا ما يطلق علية الطعم المحروق والميكروب المسئول عن ذلك هو *Lac. lactis* ss. *Lactis* var *maltigenes* حيث ينمو عند درجة حرارة ٢١°م وعدم تبريد اللبن يساعد هذا الميكروب على أن النمو ويظهر طعم المولت بوضوح في الزبد.

٣- الطعم السمكى **Fish taste**

وقد يظهر هذا الطعم نتيجة وجود بعض سلالات من جنس *Pseudomonas*.

٤-الرائحة المشابهة للبطاطس **Potato like odor**

تظهر هذه الرائحة أيضاً في القشدة واللبن الخام وترجع إلى الميكروبات التابعة لجنس *Pseudomonas*.

سابعاً: الميكروبات المنتجة للألوان Color producing microorganisms

تسبب بعض الميكروبات تغيرات في لون اللبن ومنتجاته ولابد من وجود الأكسجين لكي تنمو هذه الميكروبات وتحدث تغيراتها من حيث ظهور ألوان مختلفة وفى معظم الأحوال يكون التغير في اللون أمرا غير مرغوب ويعتبر عيب من العيوب التي تقلل من جودة المنتجات اللبنية المختلفة ومن أكثر العيوب الشائعة ظهور ألوان على سطح الزبد والجبن حيث تسبب بعض الفطريات من أجناس *Penicillium, Alternaria* إلى ظهور ألوان على سطح الزبد والجبن حيث تحدث بقع صفراء وتظهر أيضا في الشقوق في طبقة الشمع وهناك بعض من سلالات جنس *Pseudomonas* تنتج صبغات فلورسنتية وبعض البقع السوداء على سطح الزبد وقد تنتج بعض الخمائر بقع وردية أو بنية على السطح أو داخل الجبن وظهور اللون الأحمر يكون ناتجاً عن وجود سلالات من جنس *Serratia* وتظهر أيضا الصبغات الصفراء نتيجة وجود بعض سلالات من أجناس *Brevibacterium, Pseudomonas*.

(الباب السابع-الفصل الثانى)

دور الكائنات الحية الدقيقة فى الألبان المتخمرة

Role of microorganisms in fermented milk

تعتبر الألبان المتخمرة من أقدم المنتجات اللبنية التي عرفها الإنسان منذ العصور القديمة وينتشر في جميع أنحاء العالم أنواع عديدة من الألبان المتخمرة تختلف تبعا لنوع اللبن ونوع البكتريا المستخدمة في الصناعة والتى تتغير صفاتها من مكان إلى أخر كما أن لطريقة الصناعة أثر واضح على صفات وخواص الناتج ، ويعتبر البدو أول من صنع الألبان المتخمرة من لبن الأبقار والأغنام والماعز والجمال ولقد اكتشف الإنسان منذ سنين عديدة أنواع البكتريا التي تستخدم للحصول على مثل هذه الألبان المتخمرة وبتطور العلوم اكتشف الإنسان أن نواتج نمو هذه البكتريا ليس قاصراً فقط على إعطاء صفات مميزة للمنتج بل أنها قادرة على إيقاف نمو وربما قتل البكتريا المسببة للفساد وأيضاً البكتريا المرضية، وقد تنبه العلماء إلى أهمية استهلاك الألبان المتخمرة على الصحة العامة للإنسان هذا وتجدر الإشارة هنا إلى أن المصريين القدماء أول من قدر الأهمية الصحية للألبان المتخمرة وتدل أثارهم على إنهم استخدموها في علاج بعض الأمراض حيث تعرف حديثاً بالأغذية العلاجية Functional foods.

الأهمية الصحية للألبان المتخمرة

Healthy importance of fermented milk

امتلكت قبائل الرعي في أسيا وجبال القوقاز في العصور القديمة أعدادا هائلة من قطعان الماشية التي أنتجت كميات كبيرة جدا من اللبن كانت أكبر من قدرتهم على استهلاكه طازجا، وعن طريق الظروف والتجارب استطاعوا التوصل إلى طريقة صناعة اللبن الزبادي ذلك الغذاء الذي يمنح الصحة والقوة وطول العمر.

تاريخ الزبادي Yoghurt history

لاحظ العلماء أن البلغار والأذربيجانيون وسائر قبائل جبال القوقاز يتميزون بأعمار طويلة وأيضا صحة طيبة دائمة وقوة جسدية مدهشة وأرجع العلماء هذه الظاهرة إلى عادتهم في تناول الزبادي والألبان المتخمرة كغذاء تقليدي Classic وأرجع العالم "ميتشنيكوف" الحاصل على جائزة نوبل عن أعماله في مجال المناعة السبب في تكون الزبادي إلى ميكروب صغير أمكن عزله من اللبن الزبادي هو" لاكتوباسيلس بولجاريكس" نسبة إلى بلغاريا، وفي اللغة البلغارية القديمة فان كلمة "يوجهورت" وهي المستعملة في الانجليزية لوصف "الزبادي" تعني اللبن الغليظ القوام ،

ولكن كلمة "زبادي" في اللغة الأشورية هي " لبنه" وهي كلمة لا تزال تستعمل حتى الأن لوصف الزبادي في بلاد الشام والكلمة تعني في اللغة الأشورية (الحياة).

وبين القرنين الرابع والسادس قبل الميلاد اعتاد صانعوا الزبادي أن يضعوه في قرب مصنوعة من جلود الخراف، وكانوا يحملونها حول وسطهم، ويبدو أن حرارة الأجساد والميكروبات العالقة بجلود الخراف كانت تؤدى إلى تخثر اللبن وتحوله إلى زبادي، ويعتقد بعض العلماء أن المحاولات السابقة لتصنيع الزبادي أنتجت مشروب لبن متخمر يسمى"كوميس" ، وكان يصنع من لبن الفرس بواسطة البلغار وهم قبيلة انتقلت من أسيا إلى البلقان في عام ٦٨١ قبل الميلاد.

وتقول الحكايات التاريخية أن "جنكيز خان" ملك المغول قد أعطي أوامره العسكرية لجنوده أن يحملوا معهم الزبادي في ميادين القتال وأن يتناولوه كجزء أساسي من طعامهم اليومي لكي يتمتعوا بالصحة والقوة، وبعد غزوهم لأوروبا اعتقد الأوربيون أن اللبن الزبادي هو الذي جعل المغول أقوياء، ولذلك بدأ الأوربيون في تناوله يومياً وهكذا أصبح الزبادي غذاء مشهورا في القرن الرابع عشر.

ويحكي تاريخ "بوذا" أنه كان صائما لفترة طويلة عندما فقد الوعي وقارب على الموت، ثم جاءته سيدة وقدمت إليه وعاء به زبادي وعندما تناوله استعاد وعيه، وتذكر الكتب البوذية المقدسة أن اللبن الزبادي يمثل أعلى قيمة غذائية يمكن الحصول عليها من تخمر لبن البقر وهكذا اعتبرت البوذية لبن الزبادي أحسن دواء، ولذلك أصبح اللبن الزبادي معروفاً في العصور السابقة كجزء من الطعام اليومي يتم تناوله غالباً لقيمته العلاجية، ولكن في العصور الحديثة كان الزبادي غير معروفاً حتى أوائل القرن العشرين عندما بدأت الدراسات الحديثة عن الزبادي تظهر كاشفة عن تأثيراته العلاجية **Therapeutic effects** لكثير من الأمراض وفوائده الصحية العديدة.

وقال ابن سينا في كتابة القانون إن اللبن الزبادي له فائدة كبيرة كمادة غذائية ومنشطة لكبار السن كما أجرى العالم الروسي ميتشنكوف تجاربه وأبحاثه على أهالى البلقان الذين يعمرون طويلاً واكتمال صحتهم وخصوبتهم وهو راجع إلى استهلاكهم اليومي لكميات كبيرة من الزبادي لأن الألبان المتخمرة (وسط حمضى) تحتوى على أحماض عضوية تؤدى إلى إبادة البكتريا التعفنية التي قد تؤدى إلى النموات السرطانية كما وجد أن الألبان المتخمرة ذات قيمة علاجية **Therapeutic value**عالية لمرض السل والتسمم الغذائي.

واتفق المتخصصون على أن الألبان المتخمرة تطلق على أى منتج لبنى يحضر باستخدام اللبن الكامل أو الفرز أو غيرهما باستخدام بادئات محددة على أن تظل الكائنات الدقيقة حية حتى يصل المنتج إلى المستهلك **Consumer** وألا يحتوى المنتج على أى بكتريا مرضية

ويندرج تحت ذلك اللبن الخض أو الشرش. ويمكن تلخيص فوائد الزبادى او ما يسمى باليوجورت فى الأتى:

١- البكتريا الموجودة بالزبادى تمنع السرطان

يحتوى الزبادي على بكتريا تسمي "لاكتوباسيلس أسيدوفيلس" وهي التي تؤدي إلى تخمر اللبن ، وتحتوي على إنزيم "اللاكتيز" الهاضم لسكر اللاكتوز الموجود في اللبن ، وهذا الإنزيم يفقده ٨٥ ٪ من البشر الناضجين وبالذات في الشعوب غير القوقازية (البيضاء) مثل العرب والأفارقة بعدما كان موجودا في جهازهم الهضمي وهم أطفال ، ويعزى إلى نقصه صعوبة هضم اللبن وحدوث اضطرابات الأمعاء وسوء الهضم والانتفاخ، وبواسطة هذه البكتريا المفيدة يتم هضم سكر اللاكتوز مما يخلص اللبن من واحد من أهم صعوبات هضمه وامتصاصه ، وهذه البكتريا مفيدة للأمعاء من حيث تثبيطها لميكروبات الأمعاء المسببة للأمراض ومنها الميكروبات العنقودية والسالمونيلا والسبب فى ذلك هو تكوين المستعمرات وإنتاج الأحماض العضوية والمواد المضادة للبكتريا Antibacterial agents.

وأظهرت دراسات أجريت على حيوانات التجارب أن البكتريا المفيدة الموجودة في الزبادي لها قدرة على تثبيط تكون الأورام وبعض الإنزيمات الضارة التي تنتجها الميكروبات المرضية والتي يمكن أن تزيد من تأثير المواد المسببة للسرطان ، وهكذا فإنها تقلل من مخاطر الإصابة بسرطان الأمعاء، كما أثبتت البحوث العلمية أن ميكروبات الزبادي المفيدة يمكن أن تقلل من الأعراض الجانبية لتعاطي المضادات الحيوية مثل الإسهال Diarrhea والالتهابات الطفيلية نتيجة تثبيط البكتريا المفيدة في الأمعاء، والبكتريا المفيدة في الزبادي يمكنها تجديد مجموعة البكتريا المفيدة في الأمعاء بسرعة، وأظهرت التجارب على الحيوانات وفي أنابيب الاختبار أن بكتريا الزبادي يمكن أن تقلل من مستويات الكولسترول في الدم ولكن التجارب على البشر مازالت مستمرة لإثبات نفس التأثير على الإنسان وأثبتت التجارب المعملية أيضا أن البكتريا المفيدة في الزبادي تؤدي إلى زيادة نشاط الجهاز المناعي عن طريق زيادة الخلايا المسئولة عن تكسير الجزيئات الخاملة في الجسم.

٢- الزبادي يحرق دهون الجسم

الرائع في اللبن الزبادي هي تلك الاكتشافات التي أثبتت أنه يمكن أن يزيد من حرق دهون الجسم والسبب ليست في سعراته بل في خصائص أخرى أثبتتها الدراسات العلمية ، فقد ثبت أن الزبادي يمكن أن يغير من قدرة الجسم على حرق الدهون مما يجعله يفقد الدهون ويحتفظ بالعضلات ، وهذه الدراسة الحديثة التي قدمها طبيب يدعى "مايكل زيميل" وهو أستاذ للتغذية في جامعة تينسي حيث وجد أن الأفراد الذي تناولوا الزبادي خالي الدسم

قد فقدوا أوزاناً أكبر بكثير مما فقده أخرون كانوا يتناولون كمية من الغذاء قليلة السعرات فقط، ولقد فقد أكلوا الزبادي ٢٢ ٪ من أوزانهم و٦١ ٪ من دهون الجسم الإجمالية ، و٨١ ٪ من الدهون الموجودة في منطقة البطن أكثر من المجموعة التي لم تتناول الزبادي واكتفت بكمية الغذاء قليلة السعرات وذلك في فترة ١٢ أسبوع.

ويعتبر فقد الدهون من منطقة البطن شيء مفيد جدا حيث أن أخطر أنواع زيادة الوزن هي تلك التي يتكون فيها الدهن في هذه المنطقة ، والتي يشبه فيها الجسم شكل التفاحة، وفيها تزيد نسبة الإصابة بأمراض القلب **Heart diseases** والسكر والسكتة الدماغية وبعض أنواع السرطان، ولقد ساعد أكل الزبادي الغني بالكالسيوم إلى فقد أكثر من بوصة في مقاس الوسط بالمقارنة بمن لم يتناولوا الزبادي، حيث يعتبر الباحثون أن نسبة الكالسيوم في الغذاء هي التي تحفز الجسم لحرق مزيد من الدهون وعدم تكون كميات جديدة منه في الجسم.

ويعتقد الباحثون أن الغذاء القليل في الكالسيوم يزيد من إنتاج إنزيمات منتجة للدهون ، ويقلل من نشاط الإنزيمات التي تكسر الدهون ، والنتيجة خلايا دهنية أكبر وأكثر دهونا ، ومن هنا جاءت نصيحة الباحثين بتناول الزبادي خالي الدسم والغني بالكالسيوم والذي يحتوي على١٠ سعر حراري فقط في الكوب المحتوي على ١٨٠ جراما ، وذلك ثلاث مرات يوميا ، وهذا الزبادي الغني بالكالسيوم يحافظ على كثافة العظام، والكتلة العضلية كما يزيد من فقد الدهون وأثبتت دراسات أخرى حديثة أن هذا المعدل من تناول الزبادي يوميا يقلل من خطر الإصابة بسرطان القولون ، وهو سبب ثالث لأعلى نسبة وفاة من السرطان في الولايات المتحدة.

٣- دهون وبروتينات الزبادى تعالج الكولسترول وضغط الدم

ويجد الزبادي كامل الدسم من يدافع عنه أيضاً ، حيث أن بعض العلماء وجدوا أن الأحماض الدهنية الموجودة في منتجات الألبان هي في الواقع متعادلة من ناحية محتواها الكولسترولي بل وأيضا هي خافضة للكولسترول، كما تم إثبات أن بروتينات الألبان لها قدرة مؤكدة على تحسن صحة الأسنان والحفاظ عليها من التسوس، وأظهرت دراسات أخرى أن نوعا من بروتينات اللبن يستطيع خفض ضغط الدم العالي ، حتى أن اليابان أنتجت مركبا علاجيا يحتوي على هذا البروتين أثبت فاعليته في خفض ضغط الدم العالي

ويقول الباحثون أن اللبن يحتوي على أكثر من٤٠ حمضاً دهنياً ، وكثيرا من هذه الأحماض الدهنية لها القدرة على الحماية من أمراض مزمنة خطيرة مثل السرطان وأمراض القلب والجهاز الدوري، ولقد أظهرت الدراسات أن هناك علاقة بين تناول هذه الأحماض الدهنية وانخفاض معدل الإصابة بسرطان الثدي في السيدات في سن اليأس، وأظهرت الدراسات أن جبن الشيدر واللبن الزبادي متشابهان في قدراتهما العلاجية غذائيا، والبكتريا المفيدة

الموجودة في الزبادي تنتج أيضا عديدا من الفيتامينات مثل فيتامين B1، B2 ، B3، B6، B12 ، فيتامينA ، K وهي فيتامينات ضرورية للحياة.

وتعتبر الألبان المتخمرة بيئة مناسبة لإمداد الجسم بالكائنات الدقيقة ذات الفوائد الصحية، تعتبر الأمعاء أكبر مسطح في جسم الإنسان حيث تتعرض بصورة مستمرة إلي العديد من العوامل الخارجية التي تؤثر بصورة مباشرة أو غير مباشرة على صحة الإنسان لذلك فإن سلامة القناة الهضمية من الأمور الأساسية لصحة الإنسان، لذلك فمن غير المستغرب أن يكون للقناة الهضمية جهاز مناعي مستقل عن الجهاز المناعي للجسم فضلاً عن وجود العديد من الكائنات الدقيقة الطبيعية خاصة في الأمعاء الغليظة تسهم في صحة الإنسان من خلال:

١ – حاجز يمنع البكتريا المرضية من غزو القناة الهضمية.

٢ – التركيب النوعي لبكتريا القولون والجهاز المناعي يعملان على أن تظهر البكتريا الموجودة عملها الوقائي.

٣ –تخليق بعض الفيتامينات وخاصة مجموعة فيتامينات B وفيتامين K.

٤ –إنتاج بعض المضادات الحيوية.

لذلك فإن المحافظة على التركيب الميكروبي للأمعاء وتدعيم المفيد من هذه الكائنات لصحة الإنسان من الأهداف الرئيسية للأغذية الوظيفية ولقد عرف الإنسان منذ زمن بعيد الخواص الصحية للألبان المتخمرة وعزى إلى بعضها طول أعمار الشعوب التى تتناولها بانتظام غير أنه لم يثبت أن البادئات التقليدية لتلك المنتجات لها القدرة علي البقاء فى الأمعاء حيث يعتمد أثرها المفيد علي استمرار وإمداد الجسم بأعداد كبيرة من الكائنات الدقيقة المفيدة ولذلك اتجهت الدراسات الحديثة إلى محاولة عزل الكائنات الدقيقة والمستوطنة للقناة الهضمية للإنسان لتحسين الفلورا الطبيعية له غير أن هذه الكائنات لا يمكن تنميتها بمفردها بسهولة حيث أن معظمها لا هوائية تماماً.

وقد وجد أن الألبان المتخمرة بما تحتويه من كائنات دقيقة حية يمكن أن تدعم نمو ونشاط الكائنات الدقيقة ذات التأثيرات الصحية المفيدة والمعزولة من مصدر أدمى ويطلق عليها Probiotics وتنتمى عادة إلى أحد جنسين وهما مجموعة البيفيدو ومجموعة اللاكتوباسيلاى ، ومن أهم الأنواع المستخدمة لهذا الغرض ***Lactobacillus acidophilus*** ***, Bifidobacterium bifidum*** .

وعموماً فإنه للحصول على ألبان متخمرة ذات جوده عالية يجب توفر الشروط التالية:

١ –يجب أن يستخدم لبن خام ذو جودة مرتفعة.

٢ –يجب أن تجرى معاملة حرارية جيدة للبن.

٣-يجب أن يستخدم بادئ نشط ونقى.

٤-يجب أن يتم تبريد سريع للمنتج بعد انتهاء تصنيعه.

٥-يجب العناية التامة بعمليات التصنيع كذلك بعمليات النظافة والتعقيم لمنع حدوث التلوث.

أنواع التخمرات اللبنية المفيدة

Types of beneficial milk fermentation

عملية تخمر اللبن تحت الظروف الطبيعية عبارة عن تخمر سكر اللاكتوز وتكوين حمض اللاكتيك مع تجبن الكازين ، كما أن عملية تخمير اللبن تحت ظروف معينة تؤدى إلى الحصول على الألبان المتخمرة بمختلف أنواعها والتي تختلف في صفاتها الحسية والكيميائية تبعا لطبيعة وخواص ودرجة نشاط الكائنات الحية الدقيقة. وعملية التخمير من الوجهة الميكروبيولوجية هي عبارة عن عمليات حيوية تقوم بها الكائنات الحية الدقيقة بغرض توفير الطاقة اللازمة لنموها وتكاثرها. ونتيجة هذا التخمير تحدث عدة تغيرات في المادة الغذائية تكسبها خواص معينة وتعتبر الكربوهيدرات هي المادة الرئيسية أو المركب الرئيسى لعملية التخمير بفعل الكائنات الحية الدقيقة حيث تحلل سكر اللاكتوز إلى جلوكوز وجلاكتوز ويعتبر الجلوكوز المركب الرئيسى لبدء عملية التخمير كما أن الجلاكتوز يتحول إلى مشتقات متشابهة مع الجلوكوز.

ويمكن إجمال تخمر سكر اللاكتوز فيما يلي:

- تخمر حمض اللاكتيك والذي ينتج عنه جلوكوز يتحول إلى حمض لاكتيك.
- تخمر حمض البروبيونيك وفيه يتحول الجلوكوز إلى حمض لاكتيك ثم إلى حمض بروبيونيك وحمض خليك وثانى أكسيد الكربون.
- تخمر حمض الستريك وفيه يتحول حمض الستريك إلى حمض بيروفيك ثم إلى أستيل مثيل كربينول بالإضافة إلى ثنائى أستيل بيوتلين جليكول.
- التخمر الكحولي وفيه يتحول الجلوكوز إلى إيثانول بالإضافة إلى ثاني أكسيد الكربون.
- تخمر حمض البيروفيك وفيه يتحول الجلوكوز إلى حمض خليك بالإضافة إلى حمض بيوتيريك وإيثانول وبيوتانول وأسيتون وثاني أكسيد الكربون.
- التخمر الغازي لبكتريا القولون وفيه يتحول الجلوكوز إلى حمض لاكتيك بالإضافة إلى حمض خليك وإيثانول وثاني أكسيد الكربون وهيدروجين وماء.

مراحل عملية التخمر التي تحدث في اللبن

تمر عملية التخمر الطبيعية في اللبن بأربعة مراحل مختلفة هي:

١- مرحلة التأثير المطهر

في هذه المرحلة لا يحدث نمو للبكتريا في اللبن بل قد يحدث نقصان في عدد الميكروبات بفعل التأثير المطهر للبن نظرا لوجود بعض المواد المثبطة لهذه الميكروبات وتطول هذه الفترة عند درجات الحرارة المنخفضة وتقصر عند درجات الحرارة المرتفعة.

٢- مرحلة الروبان

وفيها تنمو البكتريا بسرعة وتخمر اللبن وتكون حمض اللاكتيك ويستمر إنتاج الحمض لمدة عدة ساعات أو أكثر ويبلغ إنتاج الحموضة أقصاه عندما تتوقف الميكروبات المنتجة للحمض عن النمو لتأثرها بالحمض المرتفع التركيز ويحدث هذا عادة عندما يصل تركيز حمض اللاكتيك إلى حوالي ١٪.

٣- مرحلة التعادل

وتحدث عندما تتوقف البكتريا المسئولة عن تكوين الحمض عن النمو وعند ذلك تبدأ الفطريات والخمائر في التكاثر والنمو مستغلة البيئة الحمضية المتكونة وتقوم باستهلاك الحمض وتنتج مركبات قلوية وتتوقف هذه المدة على مدى الظروف الصحية ودرجة الحرارة ومدى تلوث اللبن

٤- مرحلة الفساد والتلف

عقب اختفاء الحمض نتيجة لنشاط الخمائر والفطريات يتحول اللبن الحمض إلى التعادل أو القلوي الخفيف حيث تنشط البكتريا الساكنة في اللبن وتسبب الفساد والتلف.

وسوف نتناول التخمرات الرئيسية المفيدة للألبان:

أولاً: تخمر حمض اللاكتيك **Lactic acid fermentation**

تخمر حمض اللاكتيك هو عبارة عن تخمر الكربوهيدرات وتحويلها إلى حمض لاكتيك كناتج أساسى مصاحب لمركبات أخرى وذلك غالباً عن طريق البكتريا المتجانسة التخمر ويتم ذلك على مراحل:

١- يتم التحلل المائى لسكر اللاكتوز إلى جلوكوز وجلاكتوز.

لاكتوز ⟵ جلوكوز + جلاكتوز

٢- يتحول الجلوكوز بعد ذلك إلى حمض بيروفيك الذى بدورة يتحول إلى حمض لاكتيك.

جلوكوز ⟵ حمض بيروفيك ⟵ حمض لاكتيك

ونلاحظ أنه لا يحدث تحول للاكتوز إلى حمض لاكتيك بصورة كاملة ولكن نجد أن التخمر ينتج عنة مركبات أخرى تسمى بالمركبات الثانوية والتي تشمل أحماض مختلفة وألدهيدات وكحولات

وغازا ت، وتختلف طبيعة وكمية هذه المركبات الثانوية باختلاف أنواع الكائنات الحية الدقيقة وينتج عن التخمر تكوين كمية من حمض اللاكتيك كبيرة تؤدى إلى تكوين خثره وذلك عندما يصل الـ pH إلى ٤,٦.

جلوكوز أو جلاكتوز ←———— حمض لاكتيك + مركبات ثانوية

وحمض اللاكتيك عبارة عن ألفاهيدروكسى بروبيونيك أسيد وهو مركب غير متطاير، وحمض اللاكتيك التجاري عديم اللون والرائحة وهو إلى حد ما سائل لزج ذو طعم حمضى قوى يحتوى على قدر من الماء ويمكن الحصول على بلورات نقية منة عن طريق التقطير للمحلول المائي تحت ضغط ونجد أن الكائنات الحية الدقيقة متجانسة التخمير تحول أكثر اللاكتوز إلى حمض لاكتيك بنسبة أكبر من ٩٠ ٪ وان حمض اللاكتيك المتكون في اللبن يمنع نمو العديد من أنواع البكتريا وخاصة الأنواع المسببة للعفونة ولذلك فان حمض اللاكتيك يعتبر كمادة حافظة ولا يحدث التلف السريع للبن الرايب.

الميكروبات المسئولة عن التخمر اللاكتيكى

١- بكتريا كروية والتي تتبع أجناس

Lactococcus,Enterococcus,Leuconostoc, Lactococcus Pediococcus.

٢- بكتريا عصوية ويتبعها أجناس *Lactobacillus, Bifidobacterium*.

ويجب أن تتميز مزارع البكتريا المنتجة لحمض اللاكتيك بما يلي:

١- القدرة على مقاومة المضادات الحيوية.

٢- القدرة على مقاومة البكتريوفاج.

٣- القدرة على مقاومة بقايا المنظفات والمطهرات.

٤- عدم إنتاج النيسين خاصة في حالة استخدام مزارع مختلطة.

٥- عدم إنتاج أى نواتج تمثيل قد تضر بخواص المنتج.

٦- القدرة على النمو في الظروف المحيطة.

ثانياً: تخمرات حمض الستريك Citric acid fermentation

يحتوى اللبن الطازج على حمض الستريك بنسبة حوالي ٠,٠٠٢ ٪ كما قد يضاف حمض الستريك في بعض عمليات التخمر كعامل منشط للإسراع من التفاعل، وتعتبر نواتج تخمر حمض الستريك هي المسئولة عن الطعم والرائحة المميزة لبعض الألبان المتخمرة مثل القشدة المتخمرة ،

ويعتبر جنس *Leuconostoc* من الأنواع الهامة فى تخمر حمض الستريك وسلالات هذا الجنس تنمو على درجة حرارة ٢١°م وتكون مجموعة من مركبات النكهة متمثلة في ثنائي الأسيتيل وحمض البروبيونيك وحمض الخليك وبعض المركبات المشتقة مثل البيوتلين جليكول والأسيتيل مثيل كربينول وتتوازن هذه المركبات مع بعضها البعض وتعطى مركبات الطعم والنكهة وأى خلل بها فان الطعم الناتج يكون غير مرغوب فيه.

ومن ناحية أخرى فان من صفات هذا التخمر هى تكوين ثاني أكسيد الكربون والذي يشترك بالطبع في الطعم المميز لنواتج التخمر، ولقد وجد أن كمية السترات التي تتواجد في اللبن تبلغ من٠,١٣ –٠,١٨٪ وعادة ما يتم تخمير كل هذه الكمية ويمكن زيادة كمية السترات المسئولة عن الطعم والنكهة عن طريق إضافة حمض الستريك إلى اللبن قبل بدء عملية التخمير أو يضاف سترات صوديوم بنسبة٠,١٥ –٠,٢٠ ٪ كما أن أفراد هذا الجنس لها دور أيضاً في تخمير سكر اللاكتوز وإنتاج حمض اللاكتيك بكمية تكفى لتجبن اللبن.

ثالثاً: تخمرات حمض البروبيونيك **Propionic acid fermentation** يحدث هذا النوع من التخمرات في أنواع كثيرة من الجبن ما يؤدى إلى ظهور الطعم المميز لهذا الجبن بجانب تكوين عيون وهى صفة مميزة وواضحة بهذه الأصناف، والميكروبات المسئولة عن هذا التخمر الهام في بعض الصناعات اللبنية هي التي تتبع جنس *Propionibacterium* وهى بكتريا كروية عصوية غير متجرثمة وتنتج ثاني أكسيد الكربون بالإضافة إلى الأحماض العضوية عند تحليلها للاكتوز ودرجة الحرارة المثلي لنموها هي٣٥ – ٣٧°م، وتشارك الميكروبات المسئولة عن هذا التخمر بدورا هاما في تسوية الجبن السويسري حيث تنمو ميكروبات هذا الجنس وتحول حمض اللاكتيك إلى حمض بروبيونيك وحمض خليك وثاني أكسيد الكربون.

رابعاً: التخمر الكحولي Alcoholic fermentation

يحدث هذا النوع في الألبان المتخمرة مثل الكيفير والكوميس وتتميز باحتوائها على ثاني أكسيد الكربون بكميات كبيرة بجانب كحول الإيثانول بنسبة ١ –٣٪ وغالبا ما يكون مسئولا عن هذا التخمر بعض الخمائر التابعة لأجناس *Torula, Saccharomyces* والتى تنمو مصاحبة لبكتريا حمض اللاكتيك وهى المسئولة عن هذا النوع من التخمر وعندما يحدث هذا التخمر في اللبن ومنتجاته الأخرى يعنى هذا ظهور تغيرات غير مرغوبة وعيوب في المنتجات.

الكائنات الحية الدقيقة المستخدمة في صناعة الألبان المتخمرة

Starter cultures used in fermented milk

تعرف هذه الكائنات الدقيقة باسم البادئات وهي عبارة عن مزارع نقية لسلالات معينة من البكتريا أو الخميرة النشطة غير الضارة وهى قد تحتوى على نوع أو أكثر من البكتريا ويتم تنميتها فى لبن فرز معقم ، وتوجد البادئات المستخدمة لإنتاج الألبان المتخمرة علي عدة صور تجارية يتوقف نجاح استخدمها علي معرفة الظروف المثلي لتنمية تلك المزارع والعوامل التي تتحكم فيها فالبادئات هي أكثر العوامل أهمية في تحديد خواص وجودة الصورة النهائية للمنتجات المتخمرة ، وعلي ذلك فإن اختبار أسلوب العمل اليومي وتناول البادئات في العمل يؤثر فى مدى نجاح صناعة الألبان المتخمرة فى المصانع.

مزارع البادئات المستخدمة في صناعة الألبان المتخمرة

Starter cultures used in fermented milk

تلعب البادئات المستخدمة في صناعة الألبان دورا هاما في تصنيع المنتجات اللبنية حيث تكسبها الطعم المميز والخواص التكنولوجية، كما تساهم كثيرا في عملية تسوية الجبن وبعضها لها صفات علاجية وصحية ولذلك تستخدم في تصنيع بعض المنتجات الصحية، والبادئات المستخدمة في صناعة الألبان عبارة عن مزارع نقية من سلالات نشطة معينة من البكتريا أو الخمائر أو الفطريات وتنمو في اللبن أو الشرش وهى غير ضارة.

وعادة ما تكون المزارع فى ثلاث صور هي:

١- ميكروب واحد فقط محدد ومعروف الصفات بدقة.

٢- عدة سلالات لميكروب واحد فقط ومعروف الصفات بدقة.

٣- عدة أنواع مختلفة من الميكروبات.

ويوجد عدة أسس يتم اختيار المزارع البكتيرية على أساسها وهى:

١- معدل النمو. ٢- المقاومة للفاج.

٣- معدل إنتاج الحموضة. ٤ - معدل إنتاج ثاني أكسيد الكربون.

٥-تكوين اللزوجة.

٦- معدل إنتاج مركبات الطعم والنكهة.

هذا وتقسم البادئات المستخدمة في صناعة الألبان المتخمرة إلى:

- البادئات الأساسية.
- البادئات المساعدة.

أولاً: البادئات الأساسية

وهى مجموعة من البادئات تستخدم بصفة رئيسية في عمليات تصنيع الألبان المتخمرة بهدف إنتاج حموضة ومعظم هذه البادئات من البكتريا وأهم الأجناس المستخدمة في ذلك هي:

أ- جنس *Lactococcus*

ومنها *Lac .lactis sub. sp. lactis, Lac .lactis sub. sp. cremoris* وهى كروية موجبة لصبغة جرام وغير متجرثمة وغير مقاومة للحرارة ودرجة الحرارة المثلى لنموها ٢٢°م ، ومن أهم مميزاتها أنها تنتج حمض لاكتيك بصفة أساسية وتستخدم هذه السلالات في صناعة اللبن الخض المتخمر والقشدة المتخمرة وجبن الكوخ والكثير من أنواع الألبان المتخمرة والجبن.

ب – جنس *Leuconostoc*

ومنها *Leu. lactis, Leu.mesenteroides sub. sp.cremoris, Leu.mesenteroides sub. sp. dextranicum* وهى ميكروبات كروية موجبة لجرام وغير متجرثمة ودرجة الحرارة المثلي لنموها ٢٠ °م ومن مميزاتها أنها تخمر السترات وتنتج مواد مكسبه للطعم والنكهة وتستخدم في صناعة الكثير من الألبان المتخمرة والزبد وبعض أنواع الجبن.

جـ – جنس *Lactobacillus*

ومن أهم ميكروبات هذا الجنس *Lac.acidophilus, Lac.casei, Lac.delbrueckii sub. sp.bulgaricus* وهى ميكروبات عصوية موجبة لجرام وتنمو على درجات حرارة مرتفعة حتى ٤٥°م ومن أهم مميزاتها أنها تنتج حموضة بنسبة كبيرة وبعض المركبات المكسبة للطعم والنكهة وتستخدم في كثير من الألبان المتخمرة مثل الزبادى ولبن الأسيدوفلس والكيفير والكوميس واليوجهورت.

ثانياً: البادئات المساعدة

وهى مزارع بكتيرية أو خميرة أو فطريات تضاف لإكساب المنتج صفات مطلوبة ومرغوبة ومن أهمها:

١- جنس *Bifidobacterium*

حيث يستخدم في صناعة بعض أنواع من الألبان المتخمرة لإنتاج ألبان متخمرة علاجية ووقائية.

٢- جنس *Enterococcus*

١- تستخدم بعض سلالات من هذا الجنس في صناعة بعض أنواع من الألبان المتخمرة خاصة في الدانمرك وذلك لان بعض سلالات هذا الجنس لها مميزات في علاج التهاب القولون والإسهال.

٢- كذلك تستخدم بعض أنواع من الخمائر كبادئات في إنتاج بعض أنواع من الألبان المتخمرة مثل لبن الكيفير والكوميس وأهم الأجناس المستخدمة من الخمائر هى *Saccharomyces , Candida, Torula*.

٣- أيضاً تستخدم بعض الفطريات في إنتاج أنواع من الألبان المتخمرة في بعض الدول الأجنبية حيث يستخدم على سبيل المثال فطر *Geotrichum candidum* في إنتاج لبن متخمر يسمى فيلى Villi .

الصور المختلفة للبادئات

تتوافر البادئات علي ثلاث صور تجارية يمكن لمصانع الألبان استخدامها في تحضير مزارعها وإنتاج الألبان المتخمرة الخاصة بها وهذه الصور هي:

١- الصورة السائلة.

٢-الصورة المجمدة.

٣- الصورة المجفدة.

وعموماً فإن البادئ المستخدم في صناعة الزبادي أو اليوجهورت يتكون أساساً من ميكروبي *Lactococcus thermophilus* وهو ميكروب كروي و *Lactobacillus bulgaricus* وهو ميكروب عصوي، وللحصول علي ناتج ذو صفات جودة عالية فإنه يجب وجود كل من هذين الميكروبين بأعداد متساوية تقريبا في البادئ المستخدم للصناعة وتتمثل أهمية *Lactococcus thermophilus* عند صناعة الزبادي فيما يلي:

١- إنتاج حموضة في بداية التحضين مما يهيئ الظروف لنمو ونشاط ميكروب *Lac. bulgaricus*.

٢- إنتاج نسبة قليلة من مركبات الطعم والنكهة المميزة لهذا الناتج.

٣- إعطاء القوام المرغوب.

أما عن أهمية ميكروب *Lac.bulgaricus* فإنها تتمثل في:

١- إنتاج حمض اللاكتيك بكمية كافية للحصول علي القوام المتماسك للناتج.

٢- إنتاج المجموعة الرئيسية لمركبات الطعم والنكهة المميزة للناتج وأهمها الأسيتالدهيد.

العوامل المثبطة لمزارع البادئات

تتعدد العوامل المثبطة لمزارع البادئات وقد يكون ذلك في صورة نقص أو عدم إنتاج الحموضة أو مركبات النكهة عن طريق نقص تخمر السترات وقد يشترك أكثر من عامل في نفس الوقت ومن أهم العوامل التي تثبط مزارع البادئات:

١- اللبن الخام:

حيث يحتوى اللبن على مثبطات طبيعية مثل اللاكتينين وتختلف نسبة وجودها في الألبان المختلفة ومن حيوان إلى آخر والمعاملة الحرارية تؤدى إلى تكسير اللاكتينين.

٢- الحيوان المصاب بالتهاب الضرع:

حيث يؤدى ذلك إلى حدوث تثبيط لنشاط مزارع البادئ ويرجع ذلك إلى التأثير المثبط لكرات الدم البيضاء على بكتريا البادئ

٣- اللبن المتزنخ: حيث يؤدى ذلك إلى انفرد أحماض دهنية حرة طيارة تؤدى إلى تثبيط مزارع البادئ.

٤- المعاملة الحرارية للبن:

حيث تنمو بكتريا حمض اللاكتيك في اللبن الخام والمبستر على درجة حرارة منخفضة بدرجة اقل من التي تنمو في اللبن المبستر على درجة حرارة مرتفعة.

٥- حرارة النمو:

حيث تثبط البادئات عندما يتم تنشيطها على درجات حرارة غير ملائمة لنموها لذا يجب ضبط درجة حرارة النمو لمنع تثبيط البادئات.

٦- ظروف حفظ مزارع البادئات:

عادة تحفظ المزرعة الأم والوسطية وبادئ التصنيع قبل الاستخدام لفترة فيجب أن تحفظ هذه المزارع مبردة إذا كانت سوف تستخدم بعد فترة لان ارتفاع درجة الحرارة يؤدى إلى زيادة الحموضة التي قد تثبط نمو البادئات.

٧- المضادات الحيوية في اللبن:

وهي مواد يمكن إنتاجها أو الحصول عليها من بعض الكائنات الحية الدقيقة وهى قادرة على التغير العكسى للوظائف الحيوية الضرورية لميكروبات معينة وبالتالي تقضى عليه ومن أهم مصادر المضادات الحيوية:

أ- علاج الحيوان بالمضادات الحيوية حيث يحتجز المضاد الحيوى بواسطة أنسجة الضرع وينزل مع اللبن لذا لابد من عدم استخدام لبن ناتج من ماشية تم حقنها بالمضادات الحيوية إلا بعد مرور ٧٢ ساعة من آخر جرعة حتى يزول أثر المضاد الحيوي.

ب- بعض أنواع الميكروبات تفرز مضادات حيوية مثل *Lactococcus lactis* والتي تفرز مضاد حيوي يطلق علية النيسين Nisin.

وتقوم المضادات الحيوية بتثبيط المزارع البكتيرية عن طريق تأثيرها على تنفس الكائنات الحية الدقيقة ومن أهم المضادات الحيوية التي تؤثر على عمل الميكروبات البنسلين، الإيرومايسين ، الإستربتوميسين.

٨- المواد الحافظة في اللبن:

وهى مواد كيماوية تضاف إلى اللبن بغرض حفظة أو تقليل أو إيقاف نشاط الميكروبات المسببة للفساد ويرجع التأثير المثبط للمادة الحافظة إلى تأثيرها على جدار الخلية الميكروبية ويوقف التفاعلات التي تتم بداخل الخلية كما أنها تسبب بلزمه للخلية وتسبب موتها والعوامل المحددة لتأثير المواد الحافظة تعتمد على:

- درجة الحرارة.
- نوع المادة الحافظة.
- النسبة المضافة من المادة لحافظة.
- عدد الميكروبات في اللبن وأنواعها.

ويوجد نوعين من المواد الحافظة هما:

أ-مواد حافظة طبيعية مثل اللاكتينين والليسوزيم والتى توجد في اللبن.

ب-مواد حافظة تضاف إلى اللبن مثل ملح الطعام وفوق أكسيد الأيدروجين والفورمالين والسوربات.

٩- البكتريوفاجات:

تعرف البكتريوفاجات على انها فيروسات تقوم بتحليل البكتريا الحساسة لها وتعتبر البكتريوفاجات من اكبر العقبات التي تواجه صناعة البادئات والألبان ولعل السبب في صعوبة التحكم فيها هو صعوبة دراستها ويرجع ذلك إلى:

١- صغر حجم جزيئاتها وصعوبة رؤيتها بواسطة الميكروسكوب العادى.
٢- كثرة عددها عند تحلل الخلايا والتي تلوث الهواء والأدوات في المصنع.

والفاج متخصص جدا إلى حد إصابته سلالة معينة من نوع معين من البكتريا بجانب عوامل أخرى تحدد درجة الإصابة مثل:

١- كمية جزيئات الفاج الملوثة للبن.
٢- معدل نمو البكتريا.
٣- نسبة الكالسيوم إلى الفوسفات.

لذلك يجب استبدال البادئ المصاب وكذلك تعقيم الحجرات جيدا وتسخين اللبن جيدا حتى يتم مقاومة الفاج.

أهم العيوب الشائع حدوثها في البادئات

يوجد بعض العيوب فى البادئات والتى تسبب مشاكل عند تصنيع منتجات الألبان وهذه العيوب منها:

أولاً: بطء أو عدم تكوين الحموضة

يعتبر هذا العيب من أكثر العيوب الشائعة الحدوث في مجال صناعة البادئات ويرجع سبب حدوثه إلى:

١- نقص كمية البادئ المضافة إلى اللبن عند بدء التلقيح.
٢- عدم استخدام درجات حرارة تحضين مناسبة.
٣- وجود كائنات حية دقيقة مثبطة لنمو بكتريا البادئ خاصة المتجرثمة الهوائية وبكتريا القولون.
٤- وجود مثبطات طبيعية في اللبن وعدم المعاملة الحرارية الكافية لتثبيطها.
٥- استخدام ألبان غير طبيعية في التركيب تحتوي على مضادات حيوية وغيرها من المثبطات مثل المواد الحافظة وبقايا المبيدات.
٦- الإصابة بالفاج.

ثانياً: نقص تكوين مركبات الطعم والنكهة

نظرا لأن تكوين الحموضة في البادئات والألبان المتخمرة شرطاً أساسياً لبدء نشاط البكتريا المنتجة لمركبات الطعم والنكهة فان العوامل التي تؤثر على إنتاج الحموضة سوف تؤثر بالطبع على تكوين مركبات الطعم والنكهة، كما أنه يوجد عوامل أخرى قد تؤثر على إنتاج مركبات الطعم والنكهة مثل:

١- ارتفاع درجة حرارة التحضين عن ٣٢°م حيث أن هذه الدرجة تسرع من نمو ونشاط البكتريا المكونة للحمض ويقلل من نشاط البكتريا المنتجة لمركبات الطعم والنكهة.
٢- وجود بقايا بعض المضادات الحيوية والمنظفات أو المطهرات التى تؤثر على البكتريا المسئولة عن تكوين مركبات الطعم والنكهة فقط.
٣- انخفاض محتوى اللبن من السترات.
٤- وجود بعض الميكروبات التي تمثل أو تستهلك مركبات النكهة المتكونة مثل بعض أنواع من جنس *Pseudomonas*.
٥- حفظ البادئات أو الألبان المتخمرة في الثلاجات مدة طويلة ينتج عنة انخفاض في محتواها من مركبات الطعم والنكهة.

٦- زيادة مدة التحضين تؤدى إلى استخدام مركبات النكهة والطعم في عمليات تمثيل بعض أنواع من البكتريا.

ثالثاً: زيادة الحموضة

١- ويرجع هذا العيب إلى:
٢- زيادة مدة التحضين.
٣- زيادة درجة حرارة التحضين.
٤- زيادة كمية البادئ المضافة.

رابعاً: الطعم المعدنى

يحدث بسبب تلوث اللبن بالمعادن أو بسبب تأثير حمض اللاكتيك المتكون على جدران العبوات المعدنية وقد يرجع هذا إلى النمو والنشاط الزائد للبكتريا لتابعة لجنس ***Leuconostoc*** وإنتاج مركبات تعطى هذا الطعم.

خامساً: انفصال الشرش

يحدث هذا العيب بانفصال الشرش على السطح أو التجمع في القاع أو أسفل طبقة القشدة المتكونة على سطح المنتج ويرجع هذا العيب إلى:

١- انخفاض نسبة الجوامد الكلية في اللبن.
٢- زيادة الحموضة.
٣- اهتزاز العبوات أثناء التحضين.
٤- عدم تجنيس اللبن.

ولتلافى العيوب التى تحدث فى البادئات يجب تلافى الأسباب التى تؤدى إلى مثل هذه العيوب مع مراجعتها على فترات للتأكد من سلامة البادئ.

أنواع الألبان المتخمرة Types of fermented milk

الألبان المتخمرة هي الألبان التي تستخدم فى تصنيعها الكائنات الحية الدقيقة المختلفة مثل البكتريا فقط أو البكتريا + الخميرة وينشأ عنها التجبن الحمضى (حمض اللاكتيك) أو الحمضى + كحول وغاز (ثانى أكسيد الكربون) وكل نوع من أنواع الألبان المتخمرة يتميز بوجود مركبات لها طعم معين وقوام وتركيب خاص بها، ويمكن تقسيم الألبان المتخمرة تبعا لعدة عوامل منها:

١ – نواتج التخمر Fermented products

تختلف الألبان المتخمرة تبعا لنوع التخمر وهى إما أن تكون:

أ- حموضة مرتفعة، حيث تنتج هذه الألبان حمض لاكتيك بنسب مرتفعة مثل اللبن الخض البلغارى واللبن الرايب.

ب- حموضة متوسطة وذلك كما في أنواع اليوجهورت والزبادي ولبن الأسيدوفلس.

ج- حموضة منخفضة كما في اللبن الخض المتخمر والقشدة المتخمرة.

د- حمض وكحول، حيث تنتج هذه الأنواع حمض لاكتيك وكحول بجانب غاز ثاني أكسيد الكربون كما في الكوميس والكيفير.

٢- القوام والتركيب Structure and texture

تختلف الألبان المتخمرة عن بعضها في القوام والتركيب وهى إما أن تعطى:

أ- خثره عديمة القوام حيث تكاد أن تكون سائلة وذلك كما في أنواع اللبن الرايب والكوميس والكيفير واللبن الخض واللبن الحمضى.

ب- خثره متوسطة التماسك كما في أنواع الزبادى واليوجهورت.

ج- قوام هلامي كثيف كما في الكشك والقشدة المتخمرة.

وعموماً فإنه للحصول على ألبان متخمرة جيدة يجب مراعاة الأتى:

١- استخدام لبن خام ذو جودة مرتفعة.

٢- إجراء معاملة حرارية جيدة للبن. ٣ -استخدام بادئ نشط ونقى.

٤- إجراء تبريد سريع للمنتج بعد انتهاء تصنيعه.

٥- العناية التامة بعمليات التصنيع كذلك بعمليات النظافة والتعقيم لمنع حدوث التلوث.

أنواع الألبان المتخمرة المحلية والمستوردة

أولاً: الأنواع الأجنبية Foreign types

١- لبن الأسيدوفيلس Acidophilus milk

ينتشر هذا النوع في الولايات المتحدة الأمريكية ويصنع من اللبن الكامل أو الفرز أو الشرش وتستخدم مزارع نقية من *Lac.acidophilus* ، ويصنع عن طريق تسخين اللبن إلى ٩٠°م ثم يبرد وتضاف المزارع النقية من بادئ *Lac.acidophilus* بنسبة ٢٪ ويحضن على ٣٦°م لمدة ٤ ساعات والحموضة المتكونة تتراوح ما بين٠,٧ -٠,٨٪ والناتج يتميز بقوام متماسك حيث يحفظ في الثلاجة بعد ذلك لمنع ارتفاع الحموضة.

٢- اللبن البلغارى Bulgarian milk

ويصنع من اللبن البلغارى بتسخين اللبن إلى ٨٥°م لمدة ٣٠ دقيقة ثم يبرد إلى ٢١°م ويلقح بنسبة ١ – ١,٥٪ ببادئ يحتوى على سلالات من

Lac .delbrueckii sub.sp. *bulgaricus, Lactococcus lactis* sub.sp *lactis* حتى يعطى ناتج ذو حموضة حوالى ١٪ .

٣- اللبن الخض المتخمر **Churned cultured milk**

يعتبر من الألبان المتخمرة واسعة الانتشار في أمريكا والذي يتميز باحتوائه على حبيبات من الزبد ويستخدم بادئ مكون من سلالات من جنس *Lactococcus* وجنس *Leuconostoc* ولكن يعاب على اللبن الناتج إنه يحدث به دائما انفصال للشرش مما يدفع بعض الصناع إلى إضافة بعض المواد المثبتة قبل إضافة البادئ.

٤-الداهى

حيث يصنع هذا النوع من اللبن فى الهند وبعض دول جنوب شرق أسيا من اللبن الجاموسى أو البقرى وذلك بغلى اللبن لمدة ١٠ دقائق ثم يبرد ويضاف إليه البادئ الذى يتكون من ٣ أجناس من بكتريا حمض اللاكتيك هى *Leuconostoc* , *Lactobacillus*, *Lactococcus*، وفى نهاية التخمر يكون المنتج ذو طعم ورائحة مرغوبة بسبب تكون السترات أثناء التخمر بفعل بكتريا *Leuconostoc*.

٥- اليوجهورت **Yoghurt**

وهو من أشهر الألبان المتخمرة في العالم ويشبه إلى حد كبير الزبادي في مصر وتمر صناعة اليوجهورت بعدة مراحل أهمها:

أ- تعديل تركيب اللبن وتدعيمه ببعض الإضافات وضبط معدل المواد الصلبة للوصول إلى منتج جيد من ناحية القوم.

ب- بسترة اللبن على ٧٢°م لمدة ١٥ ثانية لقتل البكتريا المرضية.

ج- إضافة البادئ *Lac.delbrueckii,* *L.bulgaricus, Lactococcus thermophilus* بعد تنشيطه ثم يترك اللبن بعد إضافة البادئ في أكواب لإتمام التخمر.

د- تبريد المنتج للتحكم في كمية الحموضة به وذلك لتقليل نشاط الميكروب.

والحموضة المتكونة عادة في اليوجهورت تكون حوالي٠,٩ - ١٪ مقدرة كحمض لاكتيك، وتعتبر خطوة إضافة البادئ لإتمام عملية التخمير هي أهم خطوة في تصنيع اليوجهورت حيث تتحكم ميكروبات البادئ في نوعية المنتج النهائي، واليوجهورت لما له من حموضة عالية إلا أنه منتج غذائي أمن صحياً لعدم مقدرة الكائنات الحية الدقيقة المرضية من النمو فيه تحت ظروف الحموضة العالية إلا أن الخمائر والفطريات هى أكثر الكائنات الحية الدقيقة مقاومة لحموضة اليوجهورت وتستطيع النمو بغزارة مسببة المشاكل.

٥-الكوميس Koumiss

يصنع من لبن أنثى الحصان في روسيا ويحتوى على الكحول وحمض اللاكتيك ويتميز الكوميس بلونه الأبيض والقوام السائل مثل اللبن ولا يحتوى على أى أجزاء متخثره أو تكتلات لبنية وهذا يرجع إلى طبيعة بروتين اللبن المستخدم فى الصناعة التي تختلف عن طبيعة بروتين لبن الأبقار حيث أنة يعطى خثره غير محسوسة أو مرئية. وتتم عملية التخمر بفعل سلالات من *Lac.delbrueckii* sub*.sp.bulgaricus* وخميرة من نوع *Torurla* ويتميز الناتج بطعمه الحمضى بالإضافة إلى تأثير الكحول وثاني أكسيد الكربون على الطعم وهو يكون رغاوى على السطح عند نقلة من وعاء إلى أخر ونظرا للزيادة الكبيرة على لبن الكوميس تمت محاولة إنتاجه من لبن الأبقار ولكن اختلف قوام اللبن نظرا لان طبيعة بروتين لبن الأبقار مختلفة عن لبن الفرس.

ويصنع لبن الكوميس من بادئ لبن فرز مبستر ويضاف إليه الخميرة من نوع *Torula* وتحضن على ٣٠ °م لمدة ١٥ ساعة كما يتم إعداد بكتريا حمض اللاكتيك في كمية من نفس هذا اللبن وتحضن على ٣٧°م لمدة ٧ ساعات ثم يضاف إليها جزء من لبن الفرس وتحضن على ٢٨°م ويمزج جيدا لتخلل الهواء لمساعدة الخميرة على النمو وعندما تصل الحموضة إلى ٠,٧٪ يعبأ الكوميس في زجاجات ويحكم قفلها ويعاد تحضينه لمدة ساعتين على درجة حرارة ٢٠ °م ثم يحفظ بعد ذلك على درجة حرارة ٥°م للتوزيع والاستهلاك.

ثانياً: الأنواع المصرية Egyptian types

١- الزبادى

الزبادي هو لبن كامل معقم جزئياً ومتخمر بأنواع معروفة ومرغوبة من بكتريا حمض اللاكتيك ويعتبر الزبادي من أقدم ما صنعه الإنسان من الألبان المتخمرة فى منطقة الشرق الأوسط ويختلف اسم اللبن الزبادي باختلاف المناطق التي يصنع بها , فهو يعرف في مصر بهذا الاسم فى حين يعرف فى سوريا وفى الهند باسم الداهى ويعرف فى باقى دول أوروبا والولايات المتحدة الأمريكية باسم اليوجهورت، وقد يوجد الزبادي أو اليوجهورت محتوياً علي قطع الفاكهة ولكن لا يضاف إليه الملح ويحلى بالسكر وعسل النحل.

يصنع الزبادى بنفس الطريقة التي يصنع بها اليوجهورت حيث يستخدم بادئ مكون من سلالات البكتريا التالية:

Lactococcus thermophilus, Lac .delbrueckii ss*.bulgaricus*

والطريقة العلمية الصحيحة لتصنيع الزبادى هى كمايلى:

١- تحضير اللبن

حيث يوزن اللبن ويختبر من حيث الحموضة ويجب أن يكون اللبن طازجاً ما أمكن لتجنب تجبنه في الخطوة التالية من الصناعة.

٢- تسخين اللبن

حيث يسخن اللبن في حمام مائي تسخين غير مباشر على٩٠ °م لمدة ١٠- ١٥دقيقة مع تقليب اللبن جيداً وباستمرار حتى يمكن تركيز مكوناته إذ يتبخر جزء من الماء أثناء التسخين، والغرض الأساسي من عملية التسخين هو القضاء علي معظم الميكروبات الموجودة باللبن وخصوصاً المرضية.

٣- تبريد اللبن

حيث يبرد اللبن إلي درجة٤٠ -٤٢ °م تبريداً فجائياً حتى لا يكون هناك فرصة لتكاثر الميكروبات المحبة للحرارة والتي قد تبقي بعد عملية التسخين ويجري التبريد باستبدال الماء الساخن في الحمام المائي بماء تنخفض درجة حرارته إلي٤٠ - ٤٢ °م وهذه الحرارة مناسبة لنمو ونشاط بكتريا الزبادى.

٤-إضافة البادئ

يمكن الحصول على البادئ من معامل الألبان المنتجة أو الجهات البحثية وهو عبارة عن سلالات من بكتريا حمض اللاكتيك والتى من أهم أنواعها

Lac. bulgaricus و *Lactococcus thermophilus* ، ويضاف البادئ بنسبة ٢ - ٣ ٪ ثم يقلب اللبن جيداً لتمام توزيع وتجانس البادئ.

٥-التعبئة

يتم تعبئة اللبن في أواني من الفخار أو الزجاج أو الصيني أو أكواب الورق المشمع، وعموماً يجب أن تكون العبوات نظيفة ومعقمة حتى لا تكون مصدر لتلوث الزبادي من جديد ويمكن الاحتفاظ بواحدة من هذه الأوانى ليكون ما بها مزرعة تستعمل كخميرة فى اليوم التالى.

٦-التخمير: توضع الأواني في الحضانة علي درجة٤٠ - ٤٢ °م حتى يتجبن اللبن في مدة تتراوح من ٤ - ٦ ساعات.

٧-حفظ الزبادي: عند تجبن اللبن تنقل الأواني من الحضانة إلي ثلاجة تفادياً لزيادة الحموضة بالزبادي ويحفظ علي هذه الدرجة المنخفضة لحين استهلاكه.

٢- اللبن الرايب

تنتشر صناعة اللبن الرايب في الريف المصري وهو عبارة عن لبن متخمر طبيعيا عن طريق ترك اللبن فترة بعد حلبه في الأوانى الفخارية على درجة حرارة الغرفة حتى يتجبن اللبن في خلال ١ – ٣ أيام تبعاً لدرجة حرارة الجو ثم تنزع طبقة القشدة المتكونة والمتبقي يعرف باسم اللبن الرايب، ومن الدراسات التي أجريت على اللبن الرايب وجد انه يحتوى على سلالات من جنس *Lactococcus* وجنس *Leuconostoc* كذلك على بعض من سلالات جنس *Lactobacillus* ولكن بكميات قليلة نظرا لنقص وجود سلالات هذا الجنس في اللبن الخام.

٣- اللبن الخض الحمضى

ينتشر هذا النوع من الألبان المتخمرة في صعيد مصر ويتميز بارتفاع حموضته ويختلف مظهرة تبعاً لاختلاف فصول السنة، وتتكون المجموعة البكتيرية التي تتواجد في اللبن الخض الحمضى من سلالات من أجناس *Lactococcus, Leuconostoc* وخاصة في فصل الشتاء وفى فصل الصيف يضاف نسبة من الملح إلى اللبن الخض وتتواجد بعض سلالات من أجناس *Lactobacillus*.

وتختلف الصورة التي يستهلك عليها تبعاً لفصل السنة ففى الصيف يتجبن اللبن بسبب ارتفاع درجة الحرارة وعندئذ يطلق علية اللبن الزير ويضاف إليه قليل من الملح وتتم تصفيته للتخلص من الشرش أما فى فصل الشتاء فإن اللبن الخض الناتج تضاف إليه كمية قليلة من المنفحة ليتجبن ويستهلك بعد تصفية الشرش كجبن قريش.

٤- الكشك

ينتشر هذا النوع من الألبان المتخمرة في صعيد مصر ويصنع بغلي حبوب القمح ثم تغسل بالماء البارد للتخلص من المواد الجيلاتينية ثم تنشر وتترك في الشمس حتى تجف ثم تزال القشرة الخارجية وتطحن للحصول على مجروش يسمى البرغل يخلط مع لبن الزير (عبارة عن مخلوط من الألبان المتخمرة منها اللبن الرايب واللبن الخض) بنسبة ١ – ٢ ثم يترك ليتخمر لمدة ٢٤ – ٤٨ ساعة ثم يقطع بعد ذلك إلى قطع صغيرة ويترك في الهواء ليجف.

ومن أهم المجاميع البكتيرية التي تتواجد في الكشك مجموعة بكتريا من جنس *Leuconostoc* والتي تتواجد بلبن الزير وتنمو وتتكاثر وتسبب زيادة الحموضة، كذلك هناك بعض أنواع من الخمائر والتي تنمو وتتكاثر وتسبب ارتفاع للحموضة، كما توجد بعض سلالات من جنس *Bacillus* وهى بكتريا متجرثمة هوائية تقوم بتحليل نشا حبوب القمح بفعل إنزيم الأميليز وتسبب في انفراد كمية من السكريات حيث تقوم الخمائر وبعض أفراد من جنس *Lactobacillus* بتخميرها وإنتاج الحموضة.

٥- القشدة المتخمرة

تتميز القشدة المتخمرة بطعم ونكهة حمضية خفيفة وهى تتميز أيضاً بقوام سميك ناعم لا يحتوى على أى شرش منفصل وتستخدم السلالات التابعة لجنس *Lactococcus* وجنس *Leuconostoc* في إنتاج القشدة المتخمرة.

٦- الكفير

وهو من أقدم الألبان المتخمرة ذات التخمر الحمضى الكحولي الغازي ويصنع من لبن الأغنام والماعز والأبقار ومن الأشياء المميزة لهذا النوع من الألبان المتخمرة هي حبوب الكفير وهى غير قابلة للذوبان في الماء وتحتوى البكتريا المسئولة عن تخمير هذا المنتج على سلالات من *Lac.lactis* ss. *lactis*, *Lac.delbrueckii* sub.sp. *bulgaricus* كما تحتوى بعض سلالات من جنس *Micrococcus* وبعض أنواع من الخمائر خاصة من *Saccharomyces* ويحتوى الناتج على٠.٧ – ١٪ حمض وحوالي ١٪ كحول بالإضافة إلى كمية وفيرة من غاز ثاني أكسيد الكربون. ويلاحظ أن حبوب الكفير المخزنة لمدة طويلة يجب تنشيطها قبل الاستخدام بغمرها في ماء دافىء لمدة ٣ – ٤ ساعات ثم في محلول بيكربونات الصوديوم ١٪ لمدة ساعتين أخرى تصبح بعدها ذات لون ابيض وحجم أكبر وصالحة للاستخدام.

ويصنع لبن الكفير عن طريق تسخين اللبن إلى ٨٥°م ويحفظ على هذه الدرجة لمدة نصف ساعة ثم يبرد إلى ٢٥°م ، ويترك فترة ثم تضاف إليه حبوب الكفير على هذه الدرجة ويترك عليها حوالي ١٢ ساعة حتى يتكون الطعم الكحولي وتظهر الغازات به ثم تفصل بعد ذلك حبوب الكفير من خلال شبكة يصفى من خلالها الكفير ثم تغسل وتجفف وتحفظ لحين استخدامها مرة أخرى ، يبرد الناتج ويصبح صالح للاستهلاك وفى بعض الأحيان قد يضاف السكروز بنسبة ١ – ٢٪ لتنشيط الخميرة، ويجب العناية بحبوب الكفير عن طريق حفظها في أكياس من الورق أو الألمونيوم في مكان بارد حيث تظل صالحة لمدة من ١٢ – ١٨ شهر.

(الباب السابع-الفصل الثالث)

دور الكائنات الحية الدقيقة فى صناعة الجبن

Role of microorganisms in cheese manufacturing

تعتبر صناعة الجبن من أهم الطرق المستخدمة لحفظ مكونات اللبن لفترات طويلة تزيد كثيرا عن اللبن السائل، حيث يوجد العديد من أصناف الجبن في جميع أنحاء العالم مقسمة تحت العديد من الأنواع التي تختلف عن بعضها تبعا لبلد المنشأ ونوع البادئات المستخدمة في التصنيع.

وعموماً يصنع الجبن إما بالتجبن الحمضى أو الإنزيمي أو كلاهما معا، ويتم التخلص من معظم الرطوبة الموجود أثناء خطوات التصنيع وقد تستهلك الجبن طازجة أو تحفظ بغرض إعطاء فرصة للكائنات الحية الدقيقة والإنزيمات سواء كانت إنزيمات المنفحة أو اللبن لإحداث تغيرات مرغوبة في الطعم والنكهة، وهو ما يعرف بعملية التسوية وعوامل التسوية فى الجبن تتمثل فيما يلي:

١- المنفحة وبدائل المنفحة.

٢- إنزيمات اللبن الطبيعية والتي تلعب دوراً هاماً عند صناعة الجبن من اللبن الخام.

٣- بكتريا البادئات.

٤- الإنزيمات الناتجة من البادئ المساعد (الثانوي) مثل بكتريا حمض البروبيونيك والخمائر والفطريات والتي تكون على جانب كبير من الأهمية في صناعة بعض الأنواع.

٥- بكتريا بخلاف البادئات وتشمل البكتريا المقاومة للبسترة والتي تظل في اللبن بعد البسترة كذلك البكتريا التي تصل إلى اللبن مباشرة أثناء التصنيع حيث ينطلق من هذه البكتريا إنزيمات تساهم في التسوية ولكن قد تؤثر هذه الكائنات الحية الدقيقة تأثيرات سلبية على تسوية الجبن نتيجة لعدم معرفة نوعية السلالات التي قد تصل إلى الخثرة.

أنواع الجبن

تقسم الجبن إلى ثلاث أقسام رئيسية هى:

١-الجبن الطرية.

٢-الجبن النصف جافة.

٣-الجبن الجافة.

أولا: الجبن الطرية Soft cheese

تتميز أصناف الجبن الطرية بارتفاع نسبة الرطوبة بها والتي تصل إلى٧٠ ٪ وهى طازجة ولا تقل عن٥٠ ٪ بعد التسوية وتتميز أيضا بأن تسويتها تتم في فترة قصيرة إذا ما قورنت بتسوية الجبن الجاف أو النصف جاف.

ومن أصناف الجبن الطرية التى تتواجد فى السوق المحلى:

الجبن الدمياطى Domiatie cheese

يعتبر الجبن الدمياطى من أهم أصناف الجبن الطرية الشائع إنتاجه واستهلاكه في مصر ويستهلك هذا الصنف طازجا أو قد يسوى عن طريق وضع الجبن في صفائح أو أوعية من البلاستيك في كمية من الشرش المبستر المحتوى على١٠ ٪ ملح تكفى لتغطية الجبن ، بعدها تقفل الصفائح أو الأوعية البلاستيك جيدا وتخزن على درجة حرارة مناسبة لمدة تتراوح ما بين ١ – ٣ أشهر وقد تزداد هذه المدة إلى ٦ أشهر بعدها تصبح الجبن مسواه وصالحة للاستهلاك .في الأسبوع الأول من التسوية تسود الكائنات الحية الدقيقة من جنس *Lactococcus lactis* *lactis* .sub.sp وبعض أفراد من جنس *Leuconostoc* ثم تبدأ في النقصان حتى نهاية الأسبوع الثانى وفي نهاية الأسبوع الثاني من التسوية تنشط سلالات جنس *Lactobacillus*حيث تزداد في الأعداد حتى تصبح هي السائدة في الأسبوع الثالث وأمكن عزل سلالات من جنس *Micrococcus* من الجبن الدمياطي المرتفع في نسبة الملح حيث أن هناك بعض السلالات التابعة لهذا الجنس تستطيع تحمل نسب الملح المرتفعة التي تضاف أثناء صناعة الجبن الدمياطي حيث تستطيع النمو وتساهم في تسوية الجبن، ولوحظ أن نسبة الملح المضافة إلى الجبن الدمياطي لها تأثير واضح على أعداد وأنواع البكتريا الموجودة في الجبن أثناء التسوية.

وفيما يلى خطوات تصنيع الجبن الدمياطى:

١- يبستر اللبن بالتسخين غير المباشر فى حمام مائى على درجة حرارة ١٦٥ °ف (٧٤ ° م تقريبا) لمدة ١٥دقيقة ثم يتم تبريد سريع للبن إلى درجة حرارة١١٠ ° ف (٤٣ ° م).

٢-تضاف كمية الملح المطلوبة بنسبة تتراوح من ٦-٩٪ من وزن اللبن حيث تزيد صيفا وتقل شتاءا، ثم يذاب الملح جيدا فى اللبن ويعاد تصفية اللبن فى حوض التجبن لإزالة الشوائب.

٣- تعدل أو تضبط درجة حرارة اللبن عند ١٠٠ ° ف (٣٧ ° م تقريبا) وهى الدرجة المناسبة للتنفيح ويجب المحافظة علي هذه الدرجة خلال فترة التجبن والتى تستغرق حوالى٣ ساعات.

٤- تضاف المنفحة السائلة بمعدل٥٠ -٦٠ مللى لتر/١٠٠ كجم لبن ، ويجب تخفيف المنفحة بالماء البارد قبل إضافتها للبن مع التقليب لمدة ٥ دقائق لتوزيع المنفحة فى اللبن توزيعاً متجانساً.

٥- يغطى حوض التجبن ويترك حتى تمام التجبن ثم يجرى تعبئة الخثرة فى القوالب المعدنية أو فى البراويز الخشبية على هيئة طبقات رقيقة حتى يسهل ترشيح الشرش من الخثرة، وفى حالة التعبئة فى قوالب تترك لمدة ٢٤ ساعة ثم تقلب وتكرر هذه العملية لمدة ٢-٣ أيام حتى تمام ترشيح الشرش وبعدها إما أن تستهلك الجبن طازجة أو تخزن.

ويوجد نوع أخر من الجبن الدمياطى يعرف بالجبن الدمياطى بالقشدة حيث يتم تصنيع هذا النوع من الجبن من اللبن والقشدة بحيث تكون نسبة الدهن فى المخلوط ١٠٪.

ويتم تصنيع هذا النوع من الجبن كما يلى:

١- تعدل نسبة الدهن فى اللبن بإضافة قشدة وتجرى هذه العملية بفرز جزء من اللبن وإضافة القشدة إلى باقى اللبن مع مراعاة ألا تزيد نسبة الدهن فى المخلوط عن ١٠٪.

٢- تضاف كمية الملح المطلوبة بنسبة تتراوح من ٥-٦٪ من وزن اللبن حيث تزيد صيفاً وتقل شتاءًا مع التقليب الجيد للمخلوط حتى يذوب الملح فى اللبن.

٣- تعدل أو تضبط درجة حرارة المخلوط عند ١٠٠ ° ف (٣٧ ° م تقريبا) وهى الدرجة المناسبة للتنفيح ويجب المحافظة علي هذه الدرجة خلال فترة التجبن والتى تستغرق حوالى ٣ -٤ ساعات.

٤- تضاف المنفحة السائلة بمعدل ١مللى لتر/١ كجم لبن مخلوط ، ويجب تخفيف المنفحة بالماء البارد قبل إضافتها للبن مع التقليب لمدة ٥ دقائق لتوزيع المنفحة فى اللبن توزيعا متجانسا.

٥- تعبأ الخثرة الناتجة فى قوالب يسع القالب ١,٥-١,٧٥ كجم خثره ثم توضع القوالب على كراسى الترشيح لمدة ٣ أيام حتى الانتهاء من ترشيح الشرش.

٦- تقلب القوالب مرتين يوميا لمدة ٣ أيام أخرى حتى يتم ترشيح كل الشرش الزائد وتصبح قوالب الجبن متماسكة.

٧- تؤخذ الأقراص من القوالب ثم تقلب مرتين يوميا ولمدة ٣ أيام أخرى, بعد ذلك تصبح الجبن صالحة للاستهلاك أو الحفظ فى الثلاجة مع الأخذ فى الاعتبار أنه يفضل أن يستهلك هذا النوع من الجبن طازجا لأن قوة حفظه أقل من الجبن الدمياطى العادى وهذا يرجع إلى ارتفاع نسبة الدهن فى هذا النوع من الجبن.

الجبن القريش

يعتبر الجبن القريش من أكثر الأنواع الشائعة في مصر خاصة في الريف المصري لسهولة تصنيعه حيث يصنع من لبن منزوع الدسم مثل اللبن الرايب أو الفرز أو الخض ويصنع بإحدى طريقتين:

أ- الطريقة التقليدية (البلدية)

حيث يصنع الجبن القريش من اللبن الرايب وهو المتبقى بعد نزع الدهن أو القشدة من اللبن الكامل بطريقة الجاذبية الأرضية والتي تعرف بعملية الترقيد وحدوث تجبن للبن بواسطة الكائنات الحية الدقيقة الموجودة به، بعدها تنقل الخثرة إلى الحصيرة وتترك لتصريف الشرش وطبقا لهذه الطريقة في التصنيع

فإن المجموعة الميكروبية للبن الخام هي التي تحدد أنواع الكائنات الحية الدقيقة لهذا الصنف من الجبن وعموما فان الأنواع السائدة تتبع أجناس *Lactococcus, Bacillus, Lactobacillus, Micrococcus* بجانب وجود بعض أعداد من ميكروبات القولون.

ب- الطريقة المحسنة

تستخدم هذه الطريقة في المصانع عن طريق استخدام اللبن الفرز الطازج في حالة توفره، أما في حالة انخفاض كميتة يمكن تدعيمه بلبن فرز مجفف مسترجع وفى هذه الطريقة يتم بسترة اللبن بهدف القضاء على الكائنات الحية الدقيقة الممرضة التي تسبب عيوب وفساد للمنتج، وبعد التبريد يتم إضافة بادئ نشط من بكتريا حمض اللاكتيك بمعدل ٣ - ٤٪ يحتوى على سلالات من جنس *Lactococcus* وجنس *Leuconostoc* بغرض إنتاج الحمض ومكسبات النكهة المرغوبة، وفى هذه الطريقة يمكن السيطرة على عدد ونوعية الكائنات الحية الدقيقة المحتمل وجودها في الجبن القريش الناتج.

وفيما يلى خطوات تصنيع الجبن القريش بطريقة التجبن الإنزيمى:

١- يوزن اللبن الفرز ويوضع فى حوض التجبن.

٢- يضاف الملح للبن بنسبة ٦-٩٪ من وزن اللبن.

٣- تعدل أو تضبط درجة حرارة اللبن عند ٩٥ ° ف (٣٥ ° م) وهى الدرجة المناسبة للتنفيح ويجب المحافظة علي هذه الدرجة خلال فترة التجبن والتى تستغرق حوالى ٣ ساعات.

٤- تضاف المنفحة السائلة بمعدل١٥ -٢٠ مللى لتر/ ١٠٠ كجم لبن فرز ، ويجب تخفيف المنفحة بالماء البارد قبل إضافتها للبن مع التقليب لمدة ٥ دقائق لتوزيع المنفحة فى اللبن توزيعاً متجانساً.

٥- يترك اللبن حتى يتجبن لمدة لاتقل عن ٣ ساعات.

٦- تعبأ الخثرة الناتجة فى القوالب أو الشاش مع وضع ثقل فى حالة الشاش ويجب مراعاة تقليب القوالب، تؤخذ الجبن من القوالب بعد يومين وبعد يوم واحد من الشاش وتقطع الجبن وتستهلك طازجة أو تخزن.

أما خطوات تصنيع الجبن القريش بطريقة التجبن الحمضى فهى كمايلى:

١- تضبط درجة حرارة اللبن الفرز عند ٨٠ ° ف (٢٧ ° م تقريبا) وهى الدرجة المناسبة لإضافة البادئ.

٢- يضاف البادئ إلى اللبن بنسبة ٣-٤٪ ويقلب جيدا.

٣- يترك اللبن حتى يتجبن لمدة تتراوح من ١٢-١٨ ساعة ويجب المحافظة علي درجة حرارة التجبن (٨٠ ° ف) طوال فترة التجبن.

٤- تعبأ الخثرة الناتجة فى القوالب أو الشاش ويجب مراعاة تقليب القوالب، تؤخذ الجبن من القوالب بعد يومين وبعد يوم واحد من الشاش.

٥- تملح الجبن الناتج بالغمر فى محلول شرش مملح تركيزه ١٥٪ لمدة ٤٨ ساعة وعندئذٍ يكون الجبن صالح للاستهلاك أو التخزين.

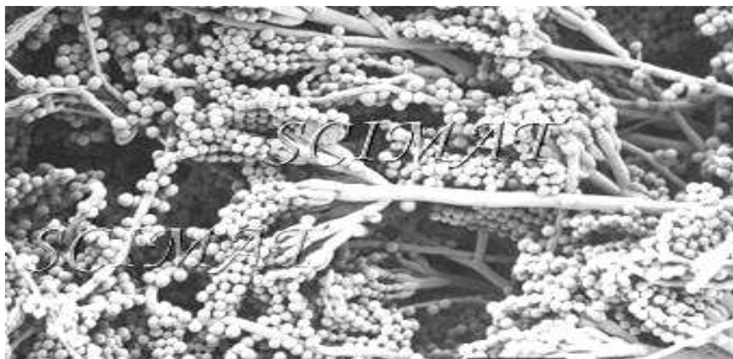
الجبن المسوى بالفطريات السطحية

وهى أنواع من الجبن الطري الذي يسوى بالفطر سطحيا حيث ينمو الفطر على سطح الجبن معطيا لوناً أبيض وتكون التسوية من الخارج إلى الداخل والجبن الناتج له طعم ورائحة مميزة مختلفة عن أنواع الجبن الأخرى

وذلك نتيجة لنشاط الفطر وإنتاج الإنزيمات المحللة للبروتينات والدهون ويوجد منها عدة أنواع أهمها الجبن الكممبرت، أما الفطريات التي تستخدم في هذه الصناعة فهى تتبع جنس ***Penicillium*** مثل سلالات ***P .camemberti, P .candidum*** وكذلك فطر ***Geotrichum candidum***.

تستخدم مزارع الفطريات في اللبن بهدف تسوية الجبن حيث ينمو في صورة خلايا تعرف بالميسليوم وتفرز إنزيمات محللة للدهون والبروتينات لإعطاء نكهة وطعم مميز للجبن وكذلك تحسين قوام تركيب الجبن ، وتنمو الفطريات في ظروف هوائية حيث تحتاج إلى الأكسجين في نموها ويغطى الفطر الأبيض السطح الخارجي للجبن، وبعد تسوية الجبن يكون لون الحافة كريمى ويميل إلى اللون البني الخفيف.

وتتكون المجموعة الميكروبية لهذا النوع أساسا من ***L .lactis* sub.sp *lactis*** المسئول عن توفير الوسط الحمضى اللازم لنمو الفطر ***G.candidium*** ثم فطر ***P.camemberti*** على سطح الجبن ويغطي ويقوم بتحليل البروتين والدهون وحمض اللاكتيك مما يعطى الفرصة لنمو بكتريا ***Brevebacillus linens*** التى تنمو على السطح مفرزة صبغة برتقالية ويصبح الجبن صالحاً للاستهلاك في نهاية الأسبوع الثالث.



شكل ٧ (٣) -١ : فطر *P .camemberti*(الميكروسكوب الإلكتروني)

ثانياً: الجبن النصف جافة

تعتبر هذه المجموعة من أصناف الجبن ذات صفات وخواص تتوسط مجموعة الجبن الطرية والجافة وكل أصناف هذه المجموعة تستهلك بعد تسويتها وتتراوح نسبة الرطوبة بها ما بين٤٠ – ٥٠٪ ويوجد منها العديد من الأنواع وأهمها الجبن المعرقة بالفطر والمسوى سطحيا بالبكتريا كذلك أصناف الجودا أو الفلمنك ومن أشهر أنواع الجبن النصف جافة مايلى:

جبن الجودا

جبن نصف جاف يصنع من لبن بقرى أو جاموسى أو خليط منهما ويسوى في خلا ٣ – ٤ شهور من إنتاجه ويستخدم في إنتاجه بادئات من بكتيريا حمض اللاكتيك ، ويتميز هذا النوع من الجبن بنمو ونشاط بكتريا البادئ المضاف والتي تحتوى على أجناس ***Lactococcus*** في البداية ثم تختفي بعد ذلك وتنشط أعداد من البكتريا العصوية من جنس ***Lactobacillus*** وتكون في زيادة مستمرة حتى نهاية فترة التسوية كما يحتوى هذا الصنف أيضاً على بكتريا تابعة لجنس ***Micrococcus*** كما توجد أعداد من ***Enterococcus***.

وفيما يلى خطوات تصنيع جبن الجودا:

١- يوزن اللبن ويوضع فى حوض التجبن.

٢- تضبط درجة حرارة اللبن عند٣٠ –٣١ ° م وهى الدرجة المناسبة لإضافة البادئ.

٣- يضاف البادئ إلى اللبن بنسبة ٥,٠٪ ويقلب جيدا والبادئ يتكون من سلالات البكتريا الأتية:

Lactococcus lactis* sub.sp*. lactis* ، *Leuconostoc mesenteroides* sub.sp*. citrovorum

٤- تضاف المنفحة السائلة عند درجة حرارة ٣٠ -٣١ ° بمعدل ٣٥-٤٠ مللى لتر/١٠٠ كجم لبن، ويجب تخفيف المنفحة بالماء البارد قبل إضافتها للبن مع التقليب لمدة ٥ دقائق لتوزيع المنفحة فى اللبن توزيعاً متجانساً.

٥- يضاف كلوريد كالسيوم لتحسين قوام الجبن، ويضاف أيضاً نترات صوديوم بنسبة ٠٥,٠ ٪ وذلك لمنع حدوث ظاهرة الانتفاخ فى الجبن الناتج.

٦- بعد تمام التجبن والذى يحدث بعد ٣٠ دقيقه يتم تقطيع الخثرة الناتجة بحيث تكون المكعبات الناتجة ١×١×١سم وتترك الخثرة بعد تقطيعها لمدة ٥ دقائق بدون تقليب, بعد ذلك يتم تقليب الخثرة لمدة ٢٠ دقيقة ويصفى ثلث الشرش ، بعد ذلك يتم رفع درجة الحرارة إلى٣٦-٣٧ ° م وهى درجة حرارة السمط ويتم الاستمرار فى عملية تقليب الخثرة للوصول للقوام المطلوب للخثرة ، وعادة تستغرق هذه العملية حوالى٩٠ دقيقة بعد تقطيع الخثرة أى بعد٦٠ دقيقة من الوصول إلى درجة حرارة السمط.

٧- يصفى الشرش بعد ترك الخثرة لتستقر فى الحوض.

٨- تعبأ الخثرة فى قوالب خاصة بهذا النوع من الجبن ثم تكبس لمدة ٢٠ دقيقة كبساً خفيفاً ثم يزداد الكبس بعد ذلك بدرجة تسمح بطرد الشرش ويفضل تغيير الشاش بعد عدة ساعات وتقلب الجبن ويعاد الكبس مره أخرى لمدة ليلة.

٩- تؤخذ الجبن من القوالب ويتم تمليحها بغمرها فى محلول ملحى مشبع وذلك على درجة حرارة ١٠ ° م لمدة ٣-٤ أيام.

١٠ - تغسل الجبن بعد ذلك وتجفف وتوضع فى غرف التسوية على درجة حرارة ١٥ ° م ورطوبة نسبية ٩٠ ٪ ، وعادة ما يفضل التسوية على درجة حرارة ٧ ° م ثم ترفع درجة الحرارة إلى١٥ ° م لمنع حدوث ظاهرة الانتفاخ فى الجبن الناتج.

١١- يتم تشميع الجبن الناتج بعد ٥ أسابيع حيث تكون جاهزة للاستهلاك بعد مرور٣ أسابيع أخرى من عملية التشميع.

الجبن المعرق بالفطر (جبن الروكفورت)

ينتج الجبن المعرق بالفطر أو ما يعرف بالجبن الأزرق منذ عدة قرون حيث يتبع في إنتاج هذا الصنف عدة خطوات أساسية ولكن الاختلاف في الأنواع يرجع إلى نوع اللبن المستخدم والمعاملات التي تجرى علية ونوع البادئ المستخدم وكمية وطريقة إضافة الفطر المستخدم في صناعة هذا النوع من الجبن المعرق، يستخدم فطر*Penicillium roqueforti* الذي يعطى لون أزرق أو أخضر مزرق ويمنع نمو الفطريات الغير مرغوبة بالإضافة إلى إفراز الإنزيمات التي تحلل الدهن والبروتين وتعطى الجبن القوام والتركيب والطعم والرائحة المرغوبة، ويتحمل هذا الفطر

التركيز العالي من الملح والذي يصل إلى٥٪ وله القدرة على النمو في تركيز منخفض من الأكسجين وتركيز مرتفع من ثاني أكسيد الكربون.

ومن أهم أنواع الجبن المعرق بالفطر أو الجبن الأزرق جبن الروكفورت وجبن الإستلتون وتتميز هذه الأنواع بأن تسويتها تتم عن طريق نمو فطر ***P.roqueforti*** ولكن هناك تغيرات ميكروبية متعددة تحدث أثناء تسوية هذا الصنف تتلخص مراحلها في الأتى:

أ- في الأيام الأولى من الصناعة تكون الكائنات الحية الدقيقة السائدة في النمو هي التي تتبع جنس ***Lactococcus*** المضاف على صورة بادئ ثم تبدأ في النقصان حتى تختفي خلال ١٥ – ١٨ يوم من التصنيع.

ب- بعد ثلاثة أسابيع تنمو على السطح بعض الخمائر سرعان ما تختفي ويحل محلها بعض الأنواع البكتيرية التابعة لجنس ***Micrococcus*** بجانب بكتريا ***Brevebacillus linens***.

ج – يتلاشى نمو الكائنات الحية الدقيقة السابقة مع زيادة نمو فطر ***P. roqueforti*** حيث يبدأ في النمو بعد حوالي ٤ أسابيع من بدأ الصناعة ويكون حوالي ١٠ أيام من وخز الأقراص أى تثقيبها للسماح للهواء بان يتخلل الأقراص من الداخل ويصل النمو أقصاه بعد حوالي ثلاثة أشهر وتتكون خلالها مركبات الطعم الأساسية المميزة لهذا الصنف من الجبن بكميات واضحة والتي تتمثل أساسا في نواتج تحلل الدهن.

وفيما يلى خطوات تصنيع الجبن الروكفورت:

١- تضبط درجة حرارة اللبن عند٨٦ ° ف (٣٠ ° م).

٢- يضاف بادئ بكتريا ***Lactococcus lactis.* sub.sp.*lactis*** إلي اللبن بنسبة٠,٥٪ ويترك اللبن حتي تصل درجة حموضته إلي٠.٢٪ مقدرة كحمض لاكتيك وتستغرق المدة اللازمة للوصول إلي هذه الحموضة عادة حوالي ٣٠ –٦٠ دقيقة.

٣- تضاف المنفحة بمعدل ٢٠ مللى لتر/١٠٠ كجم لبن بعد تخفيفها بالماء وتقلب المنفحة فى اللبن تقليبا جيدا ثم يترك اللبن حتى يتجبن.

٤- بعد تمام التجبن تقطع الخثرة إلى مكعبات وتترك ١٥ دقيقة بدون تقليب ثم يتم تقليب الخثرة حتى تزداد حموضة الشرش وتصل إلى١١, –١٤,٪ وذلك فى خلال ساعة تقريبا.

٥- ترفع درجة الحرارة بعد ذلك إلى ٣٤ ° م ثم يصفى جزء من الشرش حتى يصل مستوى الشرش إلى مستوى سطح الخثرة وذلك بعد ترك الخثرة ترسب فى قاع الحوض.

٦- يتم تمليح الخثرة بإضافة ١٪ ملح من وزن الخثرة مع مراعاة حساب وزن الخثرة على أساس١٠ ٪ من وزن اللبن ، يقلب الملح جيدا وبعد ذلك يتم تعبئة الخثرة فى قوالب خاصة بهذا الصنف من الجبن.

٧- يضاف مسحوق جراثيم فطر ***P . roqueforti*** بعد إضافة كل جزء من الخثرة إلى القالب.

٨- يتم تقليب الخثرة بعد مرور ١٥ دقيقة من التعبئة ثم كل نصف ساعة لمدة ساعتين ثم كل ٣ ساعات حتى تصبح الخثرة على درجة جيدة من الصلابة وتترك القوالب لمدة ليلة لتصفية الشرش.

٩- تؤخذ القوالب فى صباح اليوم التالى وتجرى لها عملية تمليح جاف بمعدل ٥٪ من وزن الجبن ويجب الاستمرار فى تمليح الجبن لمدة ٥ أيام ويفضل أن يكون تركيز الملح فى الجبن الناتج ٤٪.

١٠- بعد الانتهاء من عملية التمليح تترك أقراص الجبن حتى يجف سطحها تماما ثم تغطى بالشمع أو قد لا تغطى ,يتم بعد ذلك عمل عدة ثقوب فى سطح القرص بواسطة آله خاصة بذلك.

١١- توضع أقراص الجبن بعد ذلك فى حجرة التسوية على درجة حرارة ١٠ °م ورطوبة نسبية ٩٠ -٩٥٪ ,ويجب مراعاة تنظيف أسطح الأقراص باستمرار ,وتستغرق عملية التسوية مدة تتراوح من ٢-٥ شهور وبعد تمام عملية التسوية تحفظ الجبن فى الثلاجة لحين الاستهلاك.

الجبن المسوى سطحياً بالبكتريا

تتم تسوية أصناف هذا الجبن نتيجة لنمو ونشاط الكائنات الحية الدقيقة على سطح الجبن ومن أهم أصناف هذا الجبن هي:

أ- جبن البريك **Brick cheese**

وهو من الجبن الأمريكية النصف جافة ويصنع من لبن كامل الدسم مبستر بالتجبن الحمضى الإنزيمى ويستخدم بادئ مكون من خليط من ***Lac.thermophilus, Lac. lactis*** **sub.sp*. lactis*** وإجراء عملية السمط أثناء تصنيع هذا النوع من الجبن يقلل من بكتريا البادئ المستخدمة وتعتمد تسوية هذا الجبن على النمو السطحي لبعض الخمائر وبعض أنواع من جنس ***Micrococus*** والميكروب ***Brevebacillus linens*** ولا ينمو به أى فطريات مما يجعل الطعم الناتج معتدل ونمو هذه الكائنات الحية الدقيقة على السطح يعمل على تحليل البروتين ويعطى النكهة والطعم المميز لجبن البريك.

ب- جبن اللامبرجر **Lamberger cheese**

يعتبر أحد أصناف الجبن النصف جافة ويصنع بالتجبن الإنزيمى والحمضى ،حيث يستخدم فيه بادئ مختلط من ***Lac.thermopilus, Lac.lactis*** **sub.sp*. lactis*** ويسوى على ١٦°م ويرش على سطح الجبن الملح ثم يلقح سطح الأقراص من نمو سطحي لأقراص قديمة والتي تحتوى على ملايين من خلايا الخميرة ومئات الملايين من خلايا البكتريا حيث تبدأ الخمائر بالنمو أولا على السطح مع الفطر ***G.candidum*** التي تقلل من حموضة سطح الأقراص فتصبح مناسبة لنمو ***Brevebacillus*** وبذلك تكتمل المجموعة الميكروبية المسئولة عن تسوية هذا الصنف والذي يعتبر من الأصناف الحريفة الطعم بوضوح.

ثالثاً: الجبن الجافة Dry cheese

يتميز الجبن الجاف بانخفاض في نسبة الرطوبة به حيث لا تزيد عن٤٠ ٪، وتتعدد أصناف الجبن الجاف ومن أشهرها الجبن الراس المصري وجبن الكاشكافال وكذلك الأصناف الأجنبية مثل الجبن السويسرى والشيدر وغيرها. والصفات التي يكتسبها الجبن الجاف ترجع لفعل الكائنات الحية الدقيقة الموجودة في الوسط والتي تشترك في تسوية الجبن الجاف عن طريق المركبات التى تنتج نتيجة نشاط البادئ، وباختلاف المجاميع الميكروبية ونوع اللبن وطريقة الصناعة ومدة التسوية تختلف الأصناف عن بعضها البعض.

وسنذكر بعض الأمثلة على تلك الأنواع من الجبن:

الجبن الراس Ras cheese

يصنع هذا الصنف بالتجبن الحمضى الإنزيمى ويحتوى البادئ المستخدم في الصناعة على البكتريا الكروية والعصوية حيث تبدأ في النمو أولا البكتريا الكروية متمثلة في أنواع من جنس *Lactococcus* ثم تنمو بعد ذلك وبعد مرور حوالي ثلاث أسابيع من التسوية البكتريا العصوية وتصبح هى السائدة حتى نهاية مدة التسوية وهى متمثلة في سلالات من جنس *Lactobacillus* ، وتتواجد بعض أنواع من جنس *Micrococcus* والتي تتحمل نسبة الملح العالية حيث تنمو وتنتج إنزيمات تساعد على تحليل البروتين وتحويل حمض اللاكتيك بعد ذلك إلى حمض بيروفيك وانخفاض الحموضة والتي تجعل الوسط مناسب لنمو بعض أنواع من البكتريا مثل *Brevebacillus linens*.

في مصر يعرف الجبن الراس بالجبن الرومي وقد انتشرت صناعة الجبن الراس في مصر في السنوات الأخيرة انتشارا كبيرا حتي أصبحت المركز الثاني في الأهمية بعد الجبن الدمياطي وذلك نظرا لسهولة صناعتها وملائمتها لطبيعة العمل بالمصانع المصرية.

ويفضل صناعتها من مخلوط اللبن البقري والجاموسي بنسبة ١:١ وأن تعدل نسبة الكازين : الدهن لتصبح (٠,٧: ١).

وفيما يلى خطوات تصنيع الجبن الراس:

١- يوزن اللبن ويعدل تركيبه بحيث تكون نسبة الكازين :الدهن (٠,٧ : ١) ويوضع في حوض التجبن مع مراعاة ألا تزيد حموضة اللبن عن٠,١٧ –٠,١٨٪ مقدرة كحمض لاكتيك.

٢- تعدل درجة حرارة اللبن إلي ٣٣ ° م ثم يضاف بادئ *Lactococcus lactis* بنسبة ١٪ من وزن اللبن ويقلب جيدا مع اللبن ثم يترك اللبن للتسوية إلي أن تصل حموضته إلي٠,١٩ ٪.

٣- تضاف المنفحة السائلة الأساسية بمعدل ٣٠ سم^3/١٠٠ كجم لبن بعد تخفيفها بالماء وتقليبها باللبن جيدا.

٤- يترك اللبن حتي تمام التجبن والذي يستغرق حوالي ٣٥-٤٠ دقيقة مع المحافظة علي درجة حرارة اللبن طوال الخطوات السابقة علي٣٣ ° م.

٥- التقطيع: بعد تمام التجبن تقطع الخثرة بالسكاكين الأمريكية الطولية والعرضية وتترك بعدها الخثرة فترة حوالي ٥-١٠ دقائق دون تقليب.

٦- السمط: تقلب الخثرة باليد بلطف ثم يجري السمط برفع درجة حرارتها والشرش معا من ٣٣ ° م إلي٤٥ ° م خلال١٥دقيقة مع التقليب المستمر أثناء السمط. عند الوصول إلي٤٥ ° م تترك الخثرة علي هذه الدرجة لمدة٣٠ دقيقة أخري تقدر بعدها حموضة الشرش فإذا كانت في حدود٠,١٤٪ تنتهي عملية السمط وتترك الخثرة لترسب في الحوض ويصفي جزء من الشرش حتي مستوي سطح الخثرة في الحوض.

٧- يضاف ملح خشن مجروش بنسبة ٢٪ من وزن اللبن إلي الخثرة والشرش معا في حوض التجبن ويقلب جيدا وتترك لمدة ١٥ دقيقة علي حرارة ٤٥ ° م.

٨- يصفي الشرش تماماً وتعبأ الخثرة في القوالب الخاصة بهذا النوع من الجبن بعد تبطينها بشاش نظيف سبق تعقيمه بالماء الساخن.

٩- توضع القوالب تحت المكبس وتجري عملية الكبس لمدة ٣ أيام باستخدام أثقال تتزايد تدريجياً خلال الكبس بعد نزع الأقراص من القوالب وتملح بملح جاف لمدة أسبوع.

١٠- تنظف الأقراص بعد تمليحها وتترك لتجف بعدها تشمع بالبرافين.

١١-تنقل الأقراص بعد تشميعها إلي غرفة التسوية حيث يجري تسويتها علي درجة حرارة ٦٠ ° ف (١٥ ° م) ورطوبة نسبية ٨٠ -٨٥٪ وتستغرق مدة التسوية حوالي ثلاث شهور بعدها تكون الجبن جاهزة للاستهلاك.

الجبن الشيدر Chedder cheese

في هذا النوع من الجبن يستمر نمو ونشاط بكتريا البادئ المضاف والمحتوية على *Lac . lactis* sub.sp. *cremoris, Lac .lactis* sub.sp. *lactis* لمدة ٢ – ٣ شهور بعد التصنيع ثم تقل أعدادها بعد ذلك ثم تختفي وفى نفس الوقت تزداد أعداد السلالات من جنس *Lactobacillus* حتى نهاية مدة التسوية كما قد يحتوى هذا النوع على بعض سلالات من جنس *Micrococcus*.

وفيما يلى خطوات تصنيع الجبن الشيدر:

١- يوزن اللبن ويوضع فى حوض التجبن.

٢- تضبط درجة حرارة اللبن عند٣٠ ° م وهى الدرجة المناسبة لإضافة البادئ.

٣- يضاف البادئ إلى اللبن بنسبة ١ ٪ ويقلب جيدا والبادئ يتكون من سلالات البكتريا الأتية:

- *Lactococcus lactis* ss *.lactis*
- *Lactococcus lactis* ss. *cremoris*

٤- عندما تصل حموضة اللبن إلى ٢٢ , ٪ بعد إضافة البادئ وتسوية اللبن تضاف المنفحة السائلة بمعدل ٣٠ مل لتر/١٠٠ كجم لبن بعد تخفيفها بالماء وتقلب المنفحة فى اللبن تقليبا جيدا ثم يترك اللبن لتمام التجبن حيث يستغرق ذلك من ٤٥- ٥٠ دقيقة ، تقطع الخثرة بعد ذلك بحيث تكون المكعبات الناتجة ١×١×١سم.

٥-تترك الخثرة بعد تقطيعها لمدة ٢٠ دقيقة وبعد ذلك تجرى عملية سمط للخثرة وذلك برفع درجة حرارة الخثرة والشرش معا تدريجيا من٣٠ -٤٠ ° م فى مدة من٤٥-٦٠ دقيقة تدريجياً, وتنتهى عملية السمط بوصول حموضة الشرش إلى ١٧٥ , ٪ وتترك بعدها الخثرة لمدة ١٥ دقيقة وبعد هذه المدة يصفى الشرش تماما.

٦- بعد ذلك تجرى عملية الشدرنة كما يلى:

- تكوم قطع الخثرة فى جانب من حوض التجبن فى طبقة واحدة ثم يوضع فوقها لوح من الخشب وثقل.
- تترك الخثرة لمدة ٣٠ دقيقة ثم تكوم وتقسم إلى طبقتين ويوضع فوقها الخشب والثقل مرة أخرى.
- يكرر قلب الخثرة وتوضع قطع الجبن فى ثلاث طبقات ويوضع فوقها الخشب والثقل وتترك على هذه الحالة لمدة ١٠ دقائق ويكرر ذلك مرة كل٢٠ دقيقة.
- بعد مضى٣ ساعات من تصفية الشرش تصل الحموضة إلى ٠,٨٥٪ وتكون الخثرة جاهزة للفرم.
- توزن الخثرة وتفرم فى طاحونة وتترك حتى تبرد ثم يضاف إليها كمية من الملح الناعم بنسبة ٣٪ من وزن الخثرة ثم تقلب الخثرة جيدا حتى يذوب الملح.
- تعبأ الخثرة بعدما تبرد فى قوالب خاصة مبطنة بالخيش الخشن مع ضغط الخثرة باليد أثناء تعبئة القوالب.
- يوضع القالب تحت المكبس ويتم وضع الأثقال على أن تزداد الأثقال تدريجياً حتى يبدأ ظهور الشرش ثم يتبع الأتى:

ا- فى الساعة الأولى يضغط قرص الجبن بضغط قدره ١٠هندردويت.

٢- بعد ٤ ساعات يؤخذ القرص من القالب لتسوية الحواف ويوضع مره أخرى فى قطعه من الشاش الخشن ويضغط بضغط قدره ١٥-٢٠هندردويت.

٣ -فى اليوم التالى يؤخذ القرص من القالب ويوضع فى حمام مائى على درجة حرارة ١٣٠ - ١٤٠ °ف (٥٥ -٦٠ °م) لمدة ١-٢ دقيقة وذلك لتكوين قشرة خفيفة ثم يترك القرص ليجف ويوضع فى القالب مرة أخرى مع تغيير الشاشة الخشنة بأخرى ناعمة ويوضع تحت المكبس ويضغط بضغط قدره ٢٥هندردويت.

٤- فى اليوم الثالث يقلب قرص الجبن ثم يوضع تحت المكبس ويضغط بضغط قدره ٢٥هندردويت.

٥- فى اليوم الرابع يقلب قرص الجبن ثم يوضع تحت المكبس ويضغط بضغط قدره ٢٥هندردويت لمدة ٦ ساعات.

٦- بعد ذلك يتم إخراج القرص من القالب من تحت المكبس ويوضع فى غرفة التسوية على درجة حرارة ٥٥ °ف (١٣ °م) ورطوبة ٨٠ -٨٥٪.

٧- يجب تغطية قرص الجبن بشمع البرافين بعد ١٥ يوم من إخراجه من تحت المكبس.

٨- خلال الشهر الأول من التسوية يقلب قرص الجبن مرتين يوميا وبعد ذلك يقلب مرة واحدة كل يوم حتى تتم التسوية خلال ٤-٦ شهور بعدها تكون الجبن معدة للاستهلاك.

التغيرات الطبيعة والكيماوية التي تحدث أثناء تسوية الجبن

لابد أن يحدث تخزين للجبن الطازجة تحت درجات حرارة ورطوبة نسبية معينة لفترات مختلفة لكي يكتسب الجبن الطعم والقوام والتركيب المميز له وتسمى هذه العملية بعملية تسوية الجبن.

وجميع أنواع الجبن الجاف ومعظم أنواع الجبن النصف جافة وعديد من الجبن الطرية تسوى لفترات زمنية تختلف حسب نوع المنتج حيث يحدث خلال هذه الفترة من التسوية تغيرات بيوكيميائية وطبيعية ينتج على أثرها اكتساب الجبن لصفات المميزة له من طعم ونكهة وقوام وتركيب ناعم أملس وغيرها من التغيرات المطلوب الحصول عليها في الجبن الناتج.

وميكانيكية حدوث تلك التغيرات تحكمها عدة عوامل منها:

١- pH .
٢- المحتوى الرطوبى للجبن.
٣- نسبة الملح فى الجبن وطريقة التمليح.
٤- درجة حرارة تسوية الجبن.
٥- نوعية البادئات الثانوية والتي تنمو في الجبن أو على سطح الجبن.

ويحدث في الجبن ثلاثة تفاعلات أساسية أثناء التسوية هي تحلل السكريات (اللاكتوز) وتحلل البروتينات وتحلل الدهون وهذه التفاعلات تعتبر مسئولة بدرجة رئيسية عن التغيرات الأساسية في

القوام والتركيب البنائى للجبن كما أنها تعتبر مسئولة بدرجة كبيرة عن الطعم الرئيسى أو الأساسى في الجبن كما أن هناك تفاعلات ثانوية تعتبر مسئولة عن ظهور الطعم والتركيب المميز لنوع الجبن.

أولاً: التغيرات الطبيعية

١- نقص في الوزن نتيجة التبخير ويتوقف الفقد في الرطوبة على درجة الحرارة والرطوبة في غرف التسوية وحجم وشكل أقراص الجبن ووسيلة تغطيتها.

٢- يتغير قوام الجبن من القوام الجامد إلى اللين المرن نتيجة التحلل البروتينى أثناء التسوية.

٣- ظهور النكهة المرغوبة للجبن بتقدم فترة التسوية.

ثانياً: التغيرات الكيميائية

١- سكر اللاكتوز

يتحول سكر اللاكتوز خلال مراحل التصنيع إلى حمض لاكتيك بواسطة بكتريا البادئ وبعد أسبوعين تقريبا يختفى اللاكتوز من الجبن، ويتحول جزء من حمض اللاكتيك إلى أحماض عضوية ومركبات أخرى تلعب دورا هاما في إظهار نكهة الجبن كما في حالة الجبن السويسرى وينتج من تحلل حمض اللاكتيك أيضا غاز ثاني أكسيد الكربون.

٢- البروتينات

يعتبر تحلل البروتينات من أهم التفاعلات التي تحدث أثناء عملية التسوية كما يلعب دورا على جانب كبير من الأهمية في تكوين التركيب البنائى والطعم خاصة في الجبن التي تسوى داخليا بالبكتريا وتختلف درجة تحلل البروتين فمنها ما يحدث له تحلل بسيط كما في حالة الجبن الموزاريللا أو تحلل شامل كما في الجبن المسواه بالفطر، ويتحلل البروتين بواسطة عوامل التسوية من إنزيمات وميكروبات إلى مواد اقل تعقيدا مثل البروتيوزات والببتونات والببتيدات والأحماض الأمينية وتزداد نسبة تلك المواد في الجبن الطري المسوي عن الجبن الجافة كما تزيد بزيادة مدة التسوية كما تتكون مركبات وسطية مثل الفينولات والأمينات.

٣- الدهون

يحدث تحلل للدهون بفعل إنزيمات الليبيز والتي مصدرها اللبن والكائنات الحية الدقيقة ولكن بدرجة اقل من التحلل الذي يحدث للبروتين ويزداد هذا التحلل في الجبن الطرية خاصة التي تسوى بالفطر وينتج عن التحلل المائي للدهن أحماض دهنية طيارة تلعب دوراً هاماً في إظهار نكهات الجبن حيث تتحول الجليسريدات الثلاثية إلى أحماض دهنية والتي تتحول إلى مثيل كيتون بالإضافة إلى كحولات واسترات وكيتونات وتلعب الأحماض الدهنية الحرة قصيرة ومتوسطة السلسلة

الكربونية دورا هاما في إظهار نكهة الجبن, وتكوين الميثايل كيتون من الأمور الهامة في ظهور الطعم المميز للجبن المسوى بالفطر وليس هو المكون الوحيد المسئول عن طعم هذا الجبن ولكن يحتوى الجبن على تركيزات محسوسة من الكحولات الثانوية.

٤– السترات

يلاحظ أن التركيز المنخفض نسبيا للسترات في اللبن لا يعطى صورة حقيقية حول أهمية تمثيل السترات في العديد من أنواع الجبن التي تصنع باستخدام بادئات تخمر السترات مع إنتاج ثنائى الأسيتيل وثاني أكسيد الكربون مثل السلالات التي تتبع جنس ***Leuconostoc*** إلا أن تخمر السترات يساهم في ظهور الطعم المميز لبعض أنواع من الجبن.

٥– ملح الطعام

لا يحدث له تغير يذكر سوى زيادة في التركيز نتيجة لتبخير جزء من الرطوبة أثناء التسوية.

عيوب الجبن وطرق تلافيها

١– التلوث بالفطريات: يحدث تلف للجبن عن طريق نمو الفطريات على السطح مما يعطى مظهر غير مرغوب كما يصاحب ذلك طعم ورائحة غير مرغوبة، كما أن الفطريات قد تفرز سموما لها تأثير ضار بالصحة وتسبب بعض الأمراض ومن أهم الأجناس الفطرية التي تسبب عيوب وتلف للجبن هي ***Mucor, Aspergillus, Penicillium, Alternaria***، ولتلافي حدوث تلف الجبن وفسادها بواسطة الفطريات يمكن إتباع الأتي:

- العناية بنظافة وتعقيم الأدوات والأجهزة المستخدمة في الصناعة وحجرات التسوية.
- الابتعاد بقدر الإمكان عن استخدام الأرفف الخشبية في صناعة وتسوية الجبن وضرورة نعومة الأرفف حتى يسهل تنظفيها.
- طلاء غرف التسوية بمواد مضادة لنمو الفطريات.
- غمر ورق التغليف الخاص بالجبن في محلول من المواد الكيميائية المضادة للفطريات (سوربات الصوديوم أو سوربات البوتاسيوم).

٢– تكوين الغازات

يحدث هذا العيب في الجبن أثناء التصنيع أو أثناء التسوية معتمدا على أعداد وأنوع الميكروبات المسببة للغازات ويتوقف وقت ظهور هذا العيب على أعداد وأنواع الميكروبات، ومن أهم أنواع الميكروبات المسببة لهذا العيب هي بكتريا القولون التي تسبب انتفاخات مبكرة في الجبن ويختلف وقت ظهور هذه الغازات بمقدار التلوث الناتج من بكتريا القولون فإذا كان التلوث شديد للبن المستخدم ولم تتم بسترته فان الغازات تظهر أثناء عملية السمط وتتسبب في طفو الخثرة على سطح الشرش أما فى حالة الجبن الطرية يحدث هذا العيب في حوض التجبن أو أثناء

تصفية الشرش، وقد يظهر هذا العيب أيضا بعد ٢ – ٥ أيام من التصنيع بسبب التلوث بنفس الميكروبات خاصة عند استخدام بادئ غير نشط في التصنيع **Industrialization** حيث يؤدى إلى بقاء كمية كبيرة من اللاكتوز في الجبن تساهم في نشاط بكتريا القولون وتسبب تكوين غازات بعد أسبوع من التصنيع.

كما يسبب تكون الغازات بعض أنواع الخمائر المخمرة للاكتوز والتي تتبع جنس ***Saccharomyces*** كذلك بعض أنواع البكتريا المتجرثمة من جنس ***Bacillus*** والتي تسبب الثقوب الغازية. وقد لا يحدث عيب تكوين الغازات بالجبن إلا بعد عدة أسابيع من تصنيعها وفى هذه الحالة يسمى عيب الغاز المتأخر ويكون ذلك بسبب نمو بعض السلالات التابعة لجنس ***Clostridium*** وفى هذه الحالة يتكون داخل الجبن كميات كبيرة من الغاز وقد تؤدى في بعض الحالات الشديدة إلى انفجار أقراص الجبن الجاف كما يصاحب نمو ميكروبات هذا الجنس رائحة تعفنية كريهة.

ولتلافي هذا العيب يجب إتباع الأتي:

- العناية بنظافة وتعقيم الأدوات.
- بسترة اللبن للقضاء على بكتريا القولون والخمائر.
- استخدام بادئات نشطة لإيقاف نشاط البكتريا المتجرثمة.
- استخدام سلالات من ميكروب ***Lac .latis* sub.sp. *lactis*** التي تنتج المضاد الحيوى النيسين **Nisin** والمعروف فاعليته ضد ميكروبات جنس ***Clostridium***.
- العناية بتمليح الجبن حيث أن الملح له تأثير مثبط لكثير من الميكروبات المسببة لهذا العيب.

٣– تعفن السطح : ينشا هذا العيب من تجمع الرطوبة على سطح الجبن الجافة والذي يؤدى إلى نمو غشاء رقيق من الخمائر والفطريات والميكروبات المحللة للبروتين، ونمو هذه الكائنات على السطح يؤدى إلى تطرية الجبن بالإضافة إلى ظهور ألوان غير مرغوب فيها بالجبن، وقد ينشأ أحيانا ظهور روائح غير مرغوب فيها بالجبن ويمكن منع حدوث هذا العيب بالمحافظة على سطح الجبن جافا تماما.

٤–عيوب الطعم : تحدث عيوب الطعم في الجبن نتيجة لنمو بعض الميكروبات المسببة لعيوب الطعم المختلفة غير المرغوب فيها وخاصة الطعم المر والزنخ والخمائرى، وقد يحدث ظهور الطعم غير المرغوب فيه نتيجة امتصاص اللبن لبعض الروائح من مخلفات الإسطبل.

٥–عيوب اللون : تحدث الألوان على سطح الجبن بسبب نمو الميكروبات التي تنتج ألوان على سطح الجبن مثل الفطريات والتي تكون بقع خضراء أو حمراء أو سوداء أو تكون بقع صدأية

Rusty spots في الجبن الشدر وكذلك ظهور البقع الملونة في الجبن السويسرى والتي يرجع سببها إلى سلالات من جنس *Propionibacterium*.

٦-عيوب القوام والتركيب: عندما يحدث تلوث للجبن بالميكروبات المسببة لتحلل البروتين فإنه يحدث تغير في قوام الجبن ويأخذ شكل غير مرغوب فيه مثل التلوث بالفطريات أو الخمائر المحللة للبروتين فإنها تجعل قوام الجبن الجاف طريا ويساهم فى ذلك البكتريا المحللة للبروتين عند وجودها في الجبن خاصة من *Micrococcus* فإنها تغير من خواص الجبن وتجعله غير مرغوب Non-desirable كذلك البكتريا المنتجة للغازات فإنها تكون غاز ثانى أكسيد الكربون بكميات كبيرة داخل الجبن.

٧- العيوب الخاصة بالجبن المسوى بالفطر

يظهر العديد من العيوب فى الجبن المسواه بالفطر ومنها:

- **عدم النمو الجيد للفطر ويرجع ذلك إلى عدم إضافته بالكميات المناسبة أو أن الفطر لم ينمو جيدا لعدم مناسبة قوام وتركيب الجبن.**
- **حدوث نمو زائد للفطر حيث يؤدى إلى تكوين جبن رديء الطعم ويكون ذو قوام عجيني Pasty ويكون المظهر غير مقبول.**
- **ظهور النمو السطحي حيث قد ينمو على سطح الجبن المسوى بالفطر بعض أنواع الميكروبات والفطريات الأخرى تكون طبقة هلامية غير مقبولة كما قد تنمو بعض الخمائر على سطح الجبن المسوى بالفطر وتسبب تغير في لون الجبن ولذلك يجب معاملة سطح الجبن بمواد مضادة للخميرة.**
- **ظهور الطعم المر Bitter taste نتيجة نمو الفطريات بغزارة محدثة تحلل للبروتين وينتج الببتيدات غير المحبة للماء ذات الطعم المر.**

المراجع

أولا: المراجع العربية

- أحمد السروى (٢٠٠٦): معالجة مياه الصرف الصحى وتشغيل المحطات، دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع–القاهرة.
- أحمد شوقى زهران –جابر زايد بريشة، مراجعة عبد الوهاب محمد عبد الحافظ(٢٠٠٦): الإنزيمات الميكروبية وتطبيقاتها فى الصناعة والطب–النشر العلمى والمطابع–جامعة الملك سعود، الرياض، المملكة العربية السعودية.
- جابر زايد بريشة – عادل محمود حماد –مراجعة عبد الوهاب محمد عبد الحافظ (٢٠٠١). الميكروبيولوجيا الصناعية، الدار العربية للنشر والتوزيع–القاهرة.
- حسن خالد حسن العكيدى (٢٠٠٠): التقنية الحيوية والميكروبيولوجى الصناعى، دار زهران للنشر والتوزيع – عمان –الأردن.
- راشد عبد الفتاح زغلول ومراجعة راوية فتحى جمال (٢٠١٤): الكائنات الحية الدقيقة فى خدمة الإنسان، مطبعة مركز الهدى للكمبيوتر _ بنها.
- رضا أحمد عبد المجيد بيومى(٢٠٠٨): بيوتكنولوجيا الفطريات، مكتبة الأنجلو المصرية. ج.م.ع.
- سامي محمد شحاته–محمد راغب الزناتى–بهجت السيد علي (١٩٩٣): الأسمدة العضوية والأراضي الجديدة، الدار العربية لنشر والتوزيع. ج.م.ع.
- سعد علي زكي محمود –عبد الوهاب محمد عبد الحافظ –محمد الصاوي مبارك (٢٠٠٤): ميكروبيولوجيا الأراضى، مكتبة الأنجلو المصرية. ج.م.ع.
- الشحات محمد رمضان (٢٠٠٨): عجائب وغرائب الميكروبات، دار الفكر العربى – جمهورية مصر العربية
- الشحات محمد رمضان–راوية فتحي جمال(٢٠٠٥): ميكروبيولوجيا التخمرات، دار الفكر العربى،٩٤ شارع عباس العقاد–مدينة نصر–القاهرة.
- عبد الوهاب رجب هاشم ابن صادق (٢٠٠٢): ميكروبيولوجيا التعدين، دار النشر العلمى والمطابع – الرياض.
- عبد الوهاب محمد عبد الحافظ –محمد الصاوى محمد مبارك –مراجعة سعد علي زكي محمود (١٩٩٦): الميكروبيولوجيا التطبيقية،المكتبة الأكاديمية –القاهرة– جمهورية مصر العربية.

- عبد الوهاب محمد عبد الحافظ –محمد الصاوي مبارك –مراجعة سعد علي زكي محمود(١٩٩٢): الكائنات الدقيقة عملياً، الدار العربية للنشر والتوزيع –القاهرة–جمهورية مصر العربية.
- عبده السيد شحاته (١٩٩٧): تكنولوجيا الجبن، المكتبة الأكاديمية،١٢١شارع التحرير، الدقى ، القاهرة.
- عبده السيد شحاته –محمد نبيل إبراهيم المجدوب (٢٠٠٢): ميكروبيولوجى اللبن ومنتجاته، المكتبة الأكاديمية –مصر.
- فتحي إسماعيل حوقة –توفيق سعد شادي–مراجعة عبد الوهاب محمد عبد الحافظ (٢٠٠٤): الأسمدة الحيوية ودورها في حماية البيئة وسلامة الغذاء، المكتبة العصرية–المنصورة، جمهورية مصر العربية.
- محمد السيد أرناؤوط (١٩٩٧): التلوث البيئى وأثره على صحة الإنسان، الدار العربية للكتاب للطباعة والنشر والتوزيع–القاهرة – مصر.
- محمد الصاوى مبارك–عبد الوهاب محمد عبد الحافظ– راوية فتحي جمال (٢٠٠٥): عالم البكتريا، الطبعة الأولى – مكتبة أوزوريس – القاهرة.
- محمد نجيب إبراهيم أبو سعدة (٢٠١٥): التقنية الحيوية الميكروبية فى الصناعة، دار الفكر العربى –ج.م.ع.
- محمد نجيب أبو سعدة – مراجعة راوية فتحى جمال (١٩٩٨): التفاعلات الأيضية فى الخلية البكتيرية. المكتبة الأكاديمية – ج.م.ع.
- محمود محمد عوض الله السواح (٢٠٠٣): استراتيجيات التحولات الحيوية، المكتبة العصرية– المنصورة –مصر.
- مصطفي كمال أبو الدهب –حسين محمد الكشير– سيد أحمد القزاز – عالية عبد الباقى شعيب (١٩٩٧): علم البكتيرات ، دار المعارف–القاهرة.
- يحيي حسن فودة –محمد أمين عبدالله–مجدى جمعة الشيمى (١٩٩٨) : نظم الإنزيمات وتطبيقاتها فى التصنيع الغذائى، الدار العربية للنشر والتوزيع.
- يسرى صالح (٢٠٠٥): أساسيات علم البكتريا، مكتبة أوزوريس–القاهرة–جمهورية مصر العربية.

ثانياً: المراجع الإنجليزية

- Alcamo I.E. (2001): Fundamentals of Microbiology. Jones and Bartlett, London.
- Alexander, M. (1980): Introduction to Soil Microbiology .John Wiley & Sons – New York, U.S.A.
- Clazer,A.N. and H.Nikaido (1998): Microbial Biotechnology. Fundamentals of Applied Microbiology.W.H.Freeman and Company, New York.
- Cole,J.A.; C.Dow and S.Mohen (1992): Prokaryotic Structure and Function:A New Perspective ,Cambridge Univ.Press ,New York.
- Collins,C .H; Particia, M.L. and Arrange, J.M (1990): Microbiological Methods. Butter Worth Heinemann Ltd.London, UK.
- Declerck,S.;Strullu.D.G.;Fortin,J.A.(2005):In Vitro Culture of Mycorrhizas.Springer-Verlag- Berline- Heidelberg.
- Dworkin, M.; Falkow, S.; Rosenberg, E.; schleife, K. R.and Stackebrandt, E. (2006): The prokaryotes. Springer-Verlag-Berline- Heidelberg.
- Freeman Bob A. (1979): Burrows Textbook of Microbiology, 21st Ed. Saunders, Philadelphia, USA.
- Grant, W. D. and Long, P. E. (1991): Environmental Micrbiology. Printed in Great Britian by Thomason Lith. Ltd, East Kilbride, Scotland, UK.
- Lederberg J. (ed.) (1992): Encyclopedia of Microbiology. Academic Press, San Diego, USA.
- Pandey,S.N.and P. S.Trivedi (1996):A Textbook of Algae .Vikas Publ .House P. V.T.,New Delhi.
- Pelczar,M.J.Jr and E .C .S .Chan (1981): Elements of Microbiology.Mc Graw-Hill Book Co. Inc.,New York.

- **Priest, F. G.and Campbell, I. (1994): Brewing Microbiology. Chapman & Hall Madras, India.**
- **Schlegel, H . G. (1995): General Microbiology. Printed in Great Britain at the Univ. Press., Cambridge, UK.**
- **Subba Rao N.S. (1988): Biofertilizers in Agriculture. Published by Mohan Primlani, Oxford&IBH Publishing Co.Put, Ltd,New Delhi,India.**
- **Subba Rao, N. S.(1999): Soil microbiology.Science Publishers, INC. U.S.A.**

المؤلفون فى سطور

د/ خالد عبدالرحمن يوسف البنا



- من مواليد محافظة كفر الشيخ، حصل على البكالوريوس فى العلوم الزراعية تخصص علوم الأراضى والمياه من جامعة الأزهر بتقدير ممتاز مع مرتبة الشرف (١٩٨٨)،
- حصل على الماجستير الميكروبيولوجيا الزراعية من جامعة القاهرة– فرع الفيوم (١٩٩٦)،
- حصل على الدكتوراة فى الميكروبيولوجى والبيوتكنولوجى عام (٢٠٠٤) من معهد الميكروبيولوجى والبيوتكنولوجى – جامعة مونستر Muenster بألمانيا.
- حصل على درجة أستاذ فى الميكروبيولوجيا الزراعية (٢٠١٦).
- حصل على منحة أبحاث ما بعد الدكتوراة من هيئة الأبحاث العلميةا الألمانية Deutsche Forschung Gesellschaft (DFG) (٢٠٠٨).
- معار للعمل فى جامعة أم القرى (كلية العلوم التطبيقية – قسم الأحياء) بالمملكة العربية السعودية فى الفترة من نوفبمر (٢٠١١) حتى الأن.
- له أكثر من ٥٠ بحثا فى الدوريات العالمية المحكمة وذات معامل تأثير عالى.
- توصل لأكتشاف جنس جديد من البكتيريا المحبة للحرارة والتى تستطيع تحليل البوثيواستر المعروف بالبلاستيك الحيوى ومسجل ببنك الجينات وبنك المزارع الميكروبية فى المانيا (DSMZ) وبلجيكا.
- قام بتسجيل برائتين أختراع ، الاولى عن إكتشاف جنس جديد من البكتيريا بإسم *Schlegelella thermodepolymerans* والثانية عن التوصل لمستحضر زيتى طبى لعلاج الأمراض الجلدية الناتجة عن الإصابة بفطريات الأمراض الجلدية .
- عضو قائمة التحكيم فى عدة دوريات دولية فى مجال التحصص والتابعة لدار نشر Weily وهى ,Applied Microbiology ، Letter in Applied Microbiology.
- عضو قائمة التحكيم مجلة ال Extremophile التابعة لدار نشر Springer ,عضو فى الـــ Editorial Board لمجلة Frontiers in Environmental Microbiology.

- عضو الجمعية الألمانية للأبحاث العلمية Vereinigung für Allgemeine und Angewandte Microbiology (VAAM) و German Society for Microbiology and .Biotechnology
- حصل على جائزة جامعة الفيوم التقديرية للرواد فى مجال البحث العلمى لعام ٢٠١٢ كأفضل باحث.
- حصل على العديد من شهادات التقدير من جامعتى الفيوم وجامعة أم القرى فى النشر العلمى الدولى ، شارك فى تطوير المقررات والخطط الدراسية للتخصص فى جامعتى الفيوم وأم القرى, عضو لجنة الجودة وتطوير المناهج الدراسية بكلية العلوم التطبيقية- جامعة أم القرى.

د/ راوية فتحي جمال



- من مواليد القاهرة عام ١٩٤٧ , وحصلت على الدكتوراه فى الميكروبيولوجيا الزراعية عام ١٩٧٦ , من كلية الزراعة جامعة عين شمس بالقاهرة .
- تدرجت فى وظائف هيئة التدريس بالجامعة إلى أن أصبحت أستاذ لعلم الميكروبيولوجى بكلية الزراعة جامعة عين شمس ووكيل الكلية لشئون خدمة المجتمع وتنمية البيئة ٢٠٠٥-٢٠٠٧.
- عملت محاضرا فى الجامعات المصرية وشاركت فى الإشراف على ٦٢ رسالة ماجستير ودكتوراه ولها ٩٢ بحثا منشوراً فى مجالات الميكروبيولوجيا المختلفة .
- قامت بمهمة علمية بجامعة ساسكس بالمملكة المتحدة عامي ١٩٨٣-١٩٨٤.
- عضو اللجنة العلمية الدائمة لترقية الأساتذة منذ عام ٢٠٠١-٢٠٠٧ فى مجال الميكروبيولوجيا
- عضو اللجنة العلمية بالمجلس الأعلى للجامعات لترقية الأساتذة والأساتذة المساعدين (الكيمياء الحيوية-الميكروبيولوجيا-الوراثة) ٢٠٠٨-٢٠١٢.

- عضو محكم في عدة لجان علمية بالمركز القومي للبحوث , عضو مجلس إدارة الشبكة القومية للكائنات الحية الدقيقة بأكاديمية البحث العلمي .وهى عضو فى عدة هيئات وجمعيات علمية وأكاديمية
- حاصلة على جائزة البحوث الممتازة من جامعة عين شمس عام ١٩٧٩ , وحاصلة على جائزة الدولة التشجيعية عام ١٩٨٦ ,وجائزة شومان للعلماء الشبان العرب عام ١٩٨٧ .
- منحت نوط الامتياز من الطبقة الأولى من رئيس الجمهورية عام ١٩٩٥ .
- حصلت على جائزة جامعة عين شمس التقديرية فى مجال العلوم الزراعية ٢٠١٠.

د/ راشد عبدالفتاح زغلول



- راشد عبدالفتاح زغلول: من مواليد محافظة القليوبية عام ١٩٦٤م .
- حصل على الدكتوراه فى الميكروبيولوجيا الزراعية عام١٩٩٣م من كلية الزراعة بمشتهر – فرع بنها – جامعة الزقازيق.
- تدرج فى وظائف هيئة التدريس بالجامعة إلى أن أصبح أستاذ لعلم الميكروبيولوجى بكلية الزراعة جامعة بنها عام ٢٠٠٥ م.
- عمل محاضرا فى الجامعات المصرية وشارك فى الإشراف على ٤٥ رسالة ماجستير ودكتوراه .
- وله ٦٠ بحثاً منشوراً فى مجالات الميكروبيولوجيا المختلفة.
- عضو محكم فى عدة لجان علمية بالمركز القومي للبحوث ومركز بحوث الصحراء .
- شارك فى فحص ومناقشة العديد من الرسائل العلمية لطلاب الدراسات العليا فى كليات الزراعة وكليات العلوم بالجامعات المصرية كمحكم من خارج لجنة الإشراف.
- عضو اللجنة العلمية الدائمة بالمجلس الأعلى للجامعات (الكيمياء الحيوية –الميكروبيولوجيا – الوراثة) ٢٠١٣– ٢٠١٦ لترقية الأساتذة والأساتذة المساعدين .
- عضو فى عدة هيئات وجمعيات علمية وأكاديمية.

- ألف العديد من الكتب العلمية وهي أساسيات الميكروبيولوجيا الزراعية ،الميكروبيولوجيا التطبيقية، التلوث البيئي مشكلات وحلول ، تدوير المخلفات والاستفادة منها، الكائنات الحية الدقيقة في خدمة الإنسان، ميكروبيولوجيا الأراضى، أسس ومقومات الزراعة العضوية .
- رئيس قسم النبات الزراعي بكلية الزراعة – جامعة بنها من ٢٠١٦/٨/١-٢٠١٨/١٠/١٢ م.
- رئيس قسم الميكروبيولوجي بكلية الزراعة – جامعة بنها من ٢٠١٨/١٠/١٣ م وحتي الأن.

د/ حسين حسن أبوالريش



- من مواليد مكة المكرمة عام ١٩٧٣ ،
- حصل على البكالوريوس في الميكروبيولوجيا التطبيقية عام ١٩٩٦ من جامعة أم القرى بمكة المكرمة
- حصل على الدكتوراه في علم البيئة الميكروبية والصحة العامة عام ٢٠٠٦ من جامعة هل Hull University في بريطانيا .
- قام بنشر حوالي ٢٧ حتى الان في دوريات علمية عالمية ذات معامل تأثير مرتفع ،
- قام بتحكيم عدة ابحاث في دوريات عالمية مثل International Bioremediation and Biodegradation (IF = 2.429) ودورية Foodborne Pathogens and Diseases (IF = 2.270) .
- رئيس قسم الاحياء بكلية العلوم التطبيقية بجامعة ام القرى ثلاث فترات.
- عمل رئيسا لقسم العلوم الصحية بكلية المجتمع بمكة المكرمة لمدة ٤ سنوات، ثم وكيلا لكلية المجتمع للتطوير.
- حاليا يشغل منصب وكيل كلية العلوم التطبيقية للشئون الاكاديمية.